II.

VIIIe CONFÉRENCE DE LA COMMISSION RÉGIONALE DE L'O.I.E. POUR L'EUROPE

Hambourg (République Fédérale d'Allemagne)
4 - 7 juillet 1978

A. — RAPPORTS

REPORTS

PONENCIAS

1. Admission, approbation, contrôle et standardisation des *produits biologiques (sérums et vaccins).*

Admission, agreement, control and standardisation of biological products (sera and vaccines).

Admición, aprobación, control y estandardización de productos biológicos (sueros y vacunas).

Bull. Off. int. Epiz., 1978, **89** (5-6), 219-226.

Contrôle des produits biologiques (avec une attention particulière pour les vaccins)

par

A. FLORENT (*)

L'intérêt d'une entente internationale visant le contrôle des produits biologiques (sérums - vaccins - antigènes) n'échappe à personne.

Chaque Etat a le souci légitime de n'admettre sur son territoire que des produits de qualité garantie, et certains ont élaboré à cette fin des normes strictes qui figurent dans une pharmacopée nationale. Parmi les pays qui n'ont pas leur propre pharmacopée, il en est qui adoptent une pharmacopée étrangère.

Les normes et les méthodes de contrôle diffèrent d'une pharmacopée à l'autre et d'un pays à l'autre, ce qui entrave la libre circulation des produits et complique singulièrement la tâche des firmes productrices et des laboratoires de contrôle officiels.

Il faut considérer en effet combien laborieuses et coûteuses sont les différentes opérations qui doivent conduire à la conclusion qu'un produit donné est ou non conforme aux exigences minimales.

Les pays de la Communauté européenne l'ont bien compris, qui ont décidé d'élaborer une charte commune, la « Pharmacopée Européenne », qui aura force obligatoire au sein des dix pays de la Communauté. Les producteurs devront en tenir compte pour la fabrication et le contrôle de leurs produits, et les contrôleurs officiels eux-mêmes devront suivre les méthodes qui y sont décrites, pour s'assurer de la qualité des sérums, vaccins et antigènes proposés à la vente dans leurs pays respectifs.

(*) Président de la Commission pour l'étude des Normes des Produits biologiques approuvées par l'O.I.E., Directeur Honoraire de l'Institut National de Recherches Vétérinaires, Bruxelles, Belgique.

Ceci sous-entend la dispense de la nécessité pour un pays de contrôler lui-même, *in extenso,* les produits émanant d'un autre pays de la Communauté lors de leur importation sur son territoire. (Il va de soi qu'une surveillance *attentive* devra être exercée par les instances officielles du pays exportateur sur toutes les firmes productrices.)

Dans cet exposé, je me limite volontairement aux produits biologiques (et particulièrement aux vaccins), les seuls qui intéressent l'O.I.E., bien que les pharmacopées mentionnées ci-dessus englobent l'ensemble des médicaments. Ce qui nous intéresse, en effet, c'est la lutte contre les maladies contagieuses, épizootiques... ou enzootiques, et le dépistage des animaux atteints ou contagieux, en vue d'assainir le cheptel indigène et d'éviter tout risque de transmission lors de l'échange d'animaux vivants.

Pour vaincre les maladies contagieuses nous devons le plus souvent disposer de vaccins d'innocuité et d'activité garanties et, pour l'éradication qui implique le dépistage des sujets contaminés, des sérums et des antigènes sont indispensables.

*
* *

Nous envisagerons d'abord les principes qui doivent nous guider dans le choix d'un vaccin : *Innocuité et activité.*

L'innocuité et l'activité sont les deux qualités fondamentales que tout vaccin doit posséder.

L'innocuité et l'activité des vaccins vétérinaires seront le plus souvent vérifiables sur les espèces animales auxquelles ils sont destinés.

L'espèce la plus sensible étant choisie de préférence lorsque le vaccin est valable pour plusieurs espèces.

I. — *Normes concernant l'innocuité des vaccins*

Il existe des vaccins inactivés et des vaccins vivants, ceux-ci naturellement ou artificiellement atténués.

1° — *Les critères d'innocuité* se rapportant *aux vaccins inactivés* sont assez faciles à déterminer, ces vaccins comportant généralement moins de risques que les vaccins vivants. En principe, ils seront préférés à ceux-ci, s'il est démontré qu'ils ont une activité au moins équivalente.

Le contrôle de l'inactivation est très important. On a dans certains cas supposé que l'activité d'un vaccin considéré comme inactivé

dépendait des particules virales ayant échappé à l'inactivation (ce fut le cas pour des vaccins antirabiques formolés). Pareille conception n'est plus admissible actuellement et l'on dispose de vaccins antirabiques parfaitement inactivés dont le pouvoir immunogène ne le cède en rien aux vaccins atténués.

Des cas de Fièvre Aphteuse post-vaccinale ont conduit à la mise en œuvre d'une technique de contrôle basée sur l'élution et la concentration du virus, suivies de son ensemencement sur cultures cellulaires sensibles, l'inoculation intradermolinguale du vaccin à des bovins sensibles ne permettant pas de garantir, à coup sûr, une inactivation totale.

L'inactivation totale est donc une exigence élémentaire posée à l'acceptation de tout vaccin présenté comme étant inactivé.

— L'innocuité suppose aussi *l'absence de réaction locale* anormale. L'incorporation d'adjuvants de l'immunité a souvent pour effet de créer une irritation locale favorisant le déclenchement des processus immunitaires. Cette réaction doit rester modérée en intensité et en durée.

— Au chapitre de l'innocuité se greffent parfois des *dispositions particulières.* Ainsi en est-il pour le vaccin antibrucellique non agglutinogène. On considère en l'occurrence comme nuisance l'apparition de réactions sérologiques post-vaccinales capables d'entraver les programmes d'éradication, et la commercialisation des sujets vaccinés.

2° — *Les caractères d'innocuité des vaccins vivants* demandent des contrôles plus laborieux.

Il est bon de distinguer ici les vérifications à faire lors de la création d'un nouveau vaccin, et les contrôles de routine à effectuer à la production de chaque lot de vaccin.

Il s'agira le plus souvent d'une souche atténuée artificiellement par des procédés sur lesquels nous ne pouvons nous étendre (action de mutagènes, de passages répétés sur animaux ou cultures cellulaires, etc.).

Les exigences pour la mise sur le marché d'un nouveau vaccin peuvent se résumer essentiellement comme suit :

a) *Atténuation suffisante.*

Il ne peut évidemment provoquer, même sous une forme atténuée, la maladie qu'il vise à éviter.

Ceci est le cas idéal, mais il est des maladies infectieuses contre lesquelles on ne dispose jusqu'ici d'aucun vaccin efficace qui ne conserve une certaine virulence résiduelle. A défaut de mieux, on est bien obligé d'y recourir.

Il est d'autre part nécessaire d'intervenir parfois chez des sujets déjà vaccinés une première fois, dès les premiers jours de la vie (c'est particulièrement le cas chez la volaille) et d'utiliser pour le renforcement d'une immunité en voie de décroissance, un vaccin moins atténué. Il faut donc accepter de s'écarter dans ces cas de l'idéal évoqué ci-dessus. Chaque cas doit donc être considéré séparément, mais des arguments suffisants doivent justifier les écarts.

Quand un agent transmissible est pathogène pour plusieurs espèces animales, il faut s'assurer que l'atténuation n'est pas seulement réelle pour l'espèce à laquelle on le destine, mais aussi pour toute espèce à laquelle l'agent peut se transmettre.

b) *Stabilité de l'atténuation.*

Le contrôle de la stabilité de l'atténuation doit se faire par une série de passages (« six » peut être considéré comme acceptable) d'animal sensible à animal sensible. On évitera de la sorte le risque que la souche vaccin récupère sa virulence à l'exploitation.

c) *Non-transmissibilité.*

Encore une fois la non-transmissibilité — particulièrement des souches virales — inoculées est un idéal vers lequel il faut tendre.

Il n'empêche que, chez la volaille, cette transmissibilité est parfois recherchée pour rendre moins laborieuses les opérations de vaccination. Il s'agit là de cas exceptionnels qui, de toute façon, sont mauvais dans leur principe.

d) *Pureté de la souche.*

Les pharmacopées prévoient la stérilité bactériologique pour tout vaccin injectable par la voie parentérale. On a admis parfois la présence de quelques germes banals dans les vaccins administrés *per os* ou par les voies nasale et conjonctivale (volailles). Cette tolérance n'est pas souhaitable, d'autant que les firmes bien équipées sont capables de produire des vaccins indemnes de toute infection parasite.

Il faut aussi, dans les vaccins viraux surtout, s'assurer de l'absence de tout autre virus que celui qui est annoncé dans le produit. Ceci suppose de nombreux contrôles qu'on n'effectue généralement que sur le lot semence, à défaut de pouvoir pratiquement les réaliser sur chaque lot.

II. — *Normes concernant l'activité*

1° — *Un contrôle d'activité sur l'animal* auquel est destiné le vaccin et comportant, quand la chose est possible, une infection d'épreuve, devra démontrer son pouvoir protecteur.

La chose est simple quand l'affection est automatiquement provoquée par l'inoculation de l'agent causal. Elle l'est beaucoup moins si la maladie est conditionnée par des facteurs favorisants divers qu'il est impossible de connaître avec précision et de maîtriser.

Dans ce cas, il est nécessaire de recourir à des tests indirects, habituellement sérologiques, qui donneront une idée au moins relative du pouvoir immunogène du vaccin. Dans de nombreux cas la corrélation est, à vrai dire, assez nette.

Un contrôle immédiat, dans les jours ou semaines qui suivent la vaccination, peut et doit suffire lors des contrôles des lots. Quand il s'agit d'une innovation, il est indispensable de s'assurer de la durée de la protection conférée. Contre certaines infections (Rage, Fièvre Aphteuse, Peste Porcine, etc.), il est exclu de revacciner plus souvent qu'annuellement, et l'exigence quant à la persistance de l'immunité doit en tenir compte. Tout nouveau vaccin mis sur le marché devra donc être examiné à ce point de vue.

Le cas de la vaccination antibrucellique chez le bétail pose un problème particulier, vu que l'effet préventif du vaccin sur l'avortement par lequel se manifeste l'infection exige, pour sa confirmation, des lots de génisses gestantes et de longs mois d'observation. Inutile de dire que le coût de pareil contrôle est particulièrement élevé et qu'on ne peut abusivement en demander la réédition. Aucun nouveau vaccin ne devrait toutefois être admis sans que pareil contrôle ne lui soit imposé. Et, à cet égard, il ne faut pas se méprendre, car deux vaccins inactivés à base de la même souche, mais additionnés d'adjuvants différents, peuvent avoir une activité totalement différente.

2° — *Titre viral et activité.*

Sur la base d'expérimentations suffisamment nombreuses, on a pu évaluer pour nombre de vaccins viraux le titre en virus qu'ils

devaient contenir pour garantir une parfaite immunisation. Un titre minimal en virus est ainsi requis jusqu'à la date de la péremption pour tout vaccin viral atténué.

3° — *Thermostabilité des vaccins* (ou test de vieillissement accéléré).

Pour s'assurer de la qualité de lyophilisation, gage de la bonne tenue du vaccin jusqu'à péremption, différents contrôles ont été préconisés, dont le contrôle de la teneur en humidité résiduelle.

Nous préférons, quant à nous, faire confiance à un test adopté par la pharmacopée des U.S.A., et repris pour les vaccins aviaires dans les prescriptions des Services Vétérinaires de la Grande-Bretagne, à savoir la mise à 37° C durant 7 jours du vaccin, suivie d'une vérification de la teneur en virus.

Sans doute cet essai est-il plus sévère que la conservation au réfrigérateur durant 1 an (période la plus habituelle de validité des vaccins), mais il permet d'éliminer des vaccins trop labiles qui, après les nombreuses manipulations liées à leur commercialisation et à leur utilisation par le praticien, risqueraient d'être tombés sous leur seuil d'activité.

Quels contrôles appliquer ?

Si tous les contrôles énumérés ci-dessus sont indispensables lors de la mise sur le marché d'un nouveau produit, on est bien obligé lors du contrôle des lots de se contenter du minimum indispensable.

C'est ce que prévoit, par exemple, la Pharmacopée Européenne, quand elle note que certains essais peuvent ne pas être effectués sur le lot, s'ils ont été réalisés sur le lot semence.

Pour les vaccins vivants, une numération microbienne ou un titrage du virus seront souvent suffisants pour remplacer le test d'activité.

Dans certains cas, le recours à des animaux de laboratoire apportera la solution.

Contrôle des sérums et des antigènes

Le problème est nettement plus simple pour les sérums et les antigènes que pour les vaccins, et c'est dans ce domaine que la standardisation biologique a fait les progrès les plus rapides. Il existe de nombreux sérums étalons mis au point par des Organismes interna-

tionaux dont l'O.M.S., et nous nous permettons de renvoyer à une liste récemment parue, « Substances biologiques. Etalons, préparations de référence et réactifs internationaux », publiée à Genève par cette Organisation (1977).

On y trouve notamment une série de sérums étalons contre les toxines des différentes clostridies (du botulisme, des gangrènes gazeuses, du tétanos), un sérum antirabique, un sérum anti-*Brucella abortus,* des sérums contre le virus de la Maladie de Newcastle et celui de la Peste Porcine, un sérum anti-Rouget, des sérums contre les Pulloroses aviaires, etc.

La liste comprend, en fait d'antigènes, les différentes tuberculines (antigènes des plus difficiles à contrôler).

Elle englobe même certains vaccins étalons (de la Rage, de la Maladie de Newcastle : vaccin vivant et vaccin inactivé, vaccin Rouget du porc).

Pour les sérums, on a arbitrairement déterminé des unités internationales, et le poids en mg de chaque sérum étalon qui correspond à l'unité correspondante.

On dispose ainsi d'une base relativement objective qui permet à chaque pays, le plus souvent sur la base d'un étalon national ajusté à l'étalon international, d'évaluer en U.I. l'activité des sérums ou des antigènes soumis à l'examen, et d'aboutir ainsi à une évaluation commune dont la signification est comprise et acceptée par tous les laboratoires tant nationaux qu'étrangers.

C'est le plus généralement à partir de sérums étalons qu'on peut normaliser les antigènes utilisés dans les diagnostics *in vitro.* C'est le cas pour la Brucellose. Ce fut récemment le cas pour l'Anémie infectieuse du cheval.

Les antigènes utilisés *in vivo,* telle la tuberculine, doivent être étalonnés *in vivo,* ce qui implique le recours aux animaux de laboratoire et, dès lors, l'introduction dans le test de variables qu'il est difficile de maîtriser parfaitement et qui rendent les résultats moins constants.

Normes et méthodes

Quand on fixe une norme, il faut s'assurer qu'une concordance existera entre les différents laboratoires de contrôle chargés de la vérifier. Rien n'est plus funeste à cet égard que les discordances constatées trop souvent entre les résultats des uns et des autres.

Le meilleur moyen pour éviter les erreurs est de recourir à des étalons de référence internationaux.

Des unités internationales ont été fixées (par exemple pour les agglutinines anti-brucelliques) et il existe un sérum étalon auquel il est possible de se référer.

L'Office International des Epizooties a admis récemment un sérum étalon, mis au point à Alfort, pour le diagnostic de l'Anémie infectieuse du cheval.

Les étalons de référence permettent d'éviter toute discordance et toute contestation.

En l'absence de standard, on ne peut que préconiser l'uniformisation des méthodes mises en œuvre, sans qu'on puisse aucunement garantir par là l'obtention de résultats identiques.

C'est donc vers la création de sérums, vaccins et antigènes de référence internationalement admis et distribués qu'il faut orienter les efforts si l'on veut aboutir à une véritable harmonisation dans ces domaines.

Ce point est extrêmement important, et c'est pourquoi il sera la conclusion de ces considérations, qui n'ont pas la prétention d'être exhaustives, sur le contrôle des produits biologiques, et tout spécialement des vaccins.

Bull. Off. int. Epiz., 1978, **89** (5-6), 227-230.

Biological products for veterinary use in Sweden

by

Göran HUGOSON (*)

Official registration is needed for all drugs and biologicals being marketed in Sweden. Detailed description of production procedures and all test programmes must be presented to and approved by the Drug Department, the National Board of Health and Welfare, which examines the documentation for and licenses drugs and biologicals for use in man as well as in animals. As regards the products for use in animals marketing is only allowed after a simultaneous consent of the National Board of Agriculture.

In the registration considerations emphasis is given for biologicals i.a. to the test procedures. The efficiency of the product always has to be documented in at least two completely separated field tests where adequate controls have been included. In addition the programmes for innocuity and sterility tests must have been judged to be satisfactory. Microbiologists specialized on these matters are always consulted for such considerations and for giving opinion also on other aspects of the product documentation such as origin of a vaccine strain, production procedures, storage stability, etc.

When registration has been given for a product it may be marketed but only along governmentally owned or controlled channels.

As to the biologicals for use in animals test records are always in addition examined for every batch, imported as well as domestically produced, by a microbiologist expecially employed for this purpose by the National Board of Agriculture. This microbiologist controls that test records are present and in agreement with the registration documents. He also has the authority to make additional tests.

(*) The National Veterinary Institute, Stockholm.

Mostly only one or two such extra tests are made for each consignment.

In special situations non-registered biologicals may be used either on a special licence for limited use or for clinical trials preceding a registration procedure. Such use of a biological for animals is only accepted after a common decision between the Board of Health and Welfare and the Board of Agriculture. The consignment of such a biological also must pass the controlling microbiologist.

The situation concerning the main occurrence of biologicals for use in animals is summarized in Table I. It should be added that a fairly limited production of autogenous vaccines is also carried out at the National Veterinary Institute e.g. for *Escherichia coli* infections in swine. The availability of biological reagents is elucidated in Table II and the use of antibiotic drugs and feed additives is shown in Tables III and IV, respectively.

TABLE I.

Collocation of the main biologicals used for immunotherapy and prophylaxis in animals.

Disease	Type of biological (1)	Site of production (1)
Avian Encephalomyelitis	V	D, I
Marek's Disease	V	I
Bovine Parainfluenza-3-virus infection	V	D
Equine Influenza	V	D, I
Canine Hepatitis infection (2)	V	D
Canine Distemper (2)	V	I
Distemper in minks	V	D
Feline Panleukopenia	V	D, I
Virus Enteritis in minks (2)	V	I
Foal diseases (*Escherichia coli, Actinobacillus equuli, Streptococcus equi* and *zooepidemicus* infections)	V	D
Corynebacterium pyogenes infection	V	D
Escherichia coli infection	V, S	D, I
Clostridium perfringens type C infection in swine	V, S	I
Erysipeloid	V, S	D, I
Tetanus	T, S	D, I
Pasteurella infection	S	D
Bovine Babesiosis	V	D
Botulism in minks (2)	T	D, I
Lung worm	V	I

1) V = vaccine; S = immune serum; T = toxoid; D = domestically produced; I = internationally produced.

2) Vaccine occurs in combination with other vaccine.

TABLE II.

List of antigens used for the diagnosis of animal diseases.

Disease/disease agent	Type of test (1)	Site of antigen production (1)
Equine Herpes Virus-I	CF	D
Eastern Equine Encephalitis	CF	I
Western Equine Encephalitis	CF	I
Venezuelan Equine Encephalitis	CF	I
Equine Infectious Anemia	ID	I
Bovine Leukosis	ID	I
Infectious Canine Hepatitis	CF	D
Newcastle Disease	HI	D
Avian Infectious Bronchitis	ID	D
Campylobacter (different types)	Ag	D
Brucella abortus	Ag, CF	D
Brucella melitensis	Ag, CF	D
Brucella suis	Ag	D
Brucella ovis	Ag, CF	I
Brucella canis	Ag	I
Clostridium botulinum (different types)	IAg	D
Clostridium perfringens (different types)	ID	D
Salmonella (different serotypes)	Ag	D
Leptospirae (different types)	Ag	D
Francisella tularensis	Ag, IF	D
Pseudomonas mallei	Ag, CF	D
Trypanosoma equiperdum (different serotypes)	CF	D
Escherichia coli (different serotypes)	Ag	D
Mycobacteriacae (different species)	LMIT, LST	I
Streptococci (different types)	P	D
Yersinia pseudotuberculosis (different serotypes)	Ag	D
Yersinia enterocolitica (serotype 0-3 and 0-9)	Ag	D

1) Ag = Agglutination test; CF = Complement fixation test; HI = Hemagglutination inhibition test; IAg = Indirect hemagglutination test; ID = Immunodiffusion test; IF = Immunofluorescence; LMIT = Leukocyte migration inhibition test; LST = Lymphocyte stimulation test; P = Precipitation test; D = Domestically produced; I = Internationally produced.

TABLE III.

The different kinds of antibiotics available for parenteral and oral use exclusively in animals. Feed additives are omitted.

Kind of antibiotic	Administration route (1)
Various forms of penicillin	I,O
Ampicillin	I, O, U
Cloxacillin	U
Tetracycline	I, O
Chlortetracycline	I, O
Oxitetracycline	I, O, U
Chloramphenicol	I, L
Streptomycin	I, O
Neomycin	I, L
Spiramycin	I
Tylosin	I, O

1) I = for injection; L = for local application; O = for oral administration; U = for udder infusion.

TABLE IV.

Antibiotics and other substances used as feed additives for growth promotion and therapeutic purposes.

Growth promotion	Therapy
Nitrovine	Chlortetracycline
Zinkbacitracin	Spiramycin
Oleandomycin	Oxitetracycline
Chlortetracycline (1)	Oleandomycin
Spiramycin	Zinkbacitracin
Flavomycin	

1) Only available for mink feed.

Bull. Off. int. Epiz., 1978, **89** (5-6), 231-238.

Admission, agreement, control and standardization of biological products in the U.K.

by

W.J. BRINLEY MORGAN (*)

The principal biological products used in the UK are listed in Table I under the headings of vaccines, therapeutic antisera, diagnostic agents and antibiotics.

CONTROL OF MEDICINAL PRODUCTS

In the UK the control of medicinal products is based on the Medicines Act (1968). This covers all products that are administered to human beings or animals for a medicinal purpose.

Veterinary immunological medicinal products are also covered by the Therapeutic Substances Order of the Diseases of Animals Acts. Further details are given in the paper by DAVIDSON (1975).

The Medicines Act provides a system of licensing under which applicants have to satisfy the National Control Authority that products are safe, effective and of adequate quality and that they have the proper facilities for manufacture.

Products must be shown to be safe in the animal species in which they are to be used and to present no unacceptable risks to the animal and human population and to the environment. Living vaccines have to be tested for reversion to virulence on animal passage and for ability to spread to contact animals. The exclusion of contaminating pathogens is an important consideration with all biological products. Assurances that the product will be free from extraneous pathogens is provided primarily by ensuring that materials used and

(*) Deputy Director, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Central Veterinary Laboratory, Weybridge.

the processes of manufacture are satisfactory. The system of tests which is built into the process is part, but only a part, of the system of giving this assurance. Inactivated vaccines present fewer risks than living ones since the inactivating agents generally used are comparatively non-specific. However, for live viral vaccines, for example live poultry viral vaccines in addition to testing the final product, testing is necessary in the flocks from which the eggs and the cell cultures are derived. An extensive range of tests is therefore needed to ensure within an acceptable degree of probability that such pathogens are absent. Examples are given in the publication entitled « Specifications for the Production and Control of Avian Live Virus Vaccines ». Similar documents are being prepared to cover all other groups of veterinary immunological products. In the meanwhile these other groups are dealt with by writing the appropriate specifications into the individual product licences.

Potency tests for vaccines should, whenever possible, include a standard vaccine which has been prepared in such a way so as to maintain its potency indefinitely. The potency of the vaccine under test may then be expressed relative to that of the standard vaccine.

International and/or British standard preparations exist for, amongst others —

The potency testing of :

Swine Erysipelas vaccine.
B. abortus Strain 19 vaccine.
Inactivated Newcastle Disease vaccine.
Clostridial vaccines.
Tuberculins.
Most antibiotics.
Canine Distemper serum.
Canine Hepatitis serum.
Swine Erysipelas serum.

For standardizing titration systems :

Living Newcastle Disease vaccine.
Marek's Disease vaccine.
Infectious Bronchitis vaccine.

For standardizing antigens and the antibody tests in which they are used international standard sera should be used whenever possible, such international sera are available for :

B. abortus (Second International Standard for Anti-*Br. abortus* serum).

M. gallisepticum.
S. pullorum (Standard and varied types).
Newcastle Disease.
Equine Influenza.

Reference reagents are also available for leptospira.

Whilst at the moment *in vitro* antigens are outside the scope of the Medicines Act, *in vivo* antigens are considered medicinal products and come within the scope of the Act. The International Standard for Human PPD tuberculin is used for standardizing human PPD tuberculin and the Avian International Standard for avian PPD for avian tuberculines. There is, under WHO consideration, proposals for establishing an International Standard for bovine PPD for standardizing bovine PPD tuberculin.

Proof of efficacy usually requires controlled field trials under practical conditions as well as tests on a laboratory scale. The claims made for a product and the recommendations for its use must be related to the evidence presented.

Product quality has to be controlled by a quality control system covering starting materials, each step in the manufacturing process and the finished product. Important points in the quality control system include the use of seed-lot system, tests for safety, potency and freedom from contamination and evidence that the potency of the product or, in the case of living vaccines, its content of specific organisms is sustained for a period exceeding the intended shelf life.

Manufacturers, whether UK based or overseas, are inspected initially and at intervals thereafter. Inspections cover premises, equipment, methods, staff and records. The principles applied to manufacturers are set out in the « Guide to Good Pharmaceutical Manufacturing Practice ». Of a particular application to biological products is Appendix 2 of the Guide covering the manufacture and control of sterile products.

Orders made under the Medicines Act cover such important subjects as labelling, methods of sale and supply, advertising, data sheets, fees and standard provisions for licences.

The standards of the European Pharmacopoeia, the British Pharmacopoeia (including the BP (Veterinary)) and the British Veterinary Codex apply, in that order of precedence, to finished products on the market. These standards, and the tests by which they are determined, can also be made to apply to the manufacturers by appropriate entries in the licences.

A sample of every batch of veterinary immunological products marketed in the UK has to be sent to the National Control Authority. These are then tested on a selective basis to monitor the effectiveness of the manufacturers quality control system. The Control Authority's laboratories also conduct research into the effectiveness of quality control methods and develop new methods where these are needed.

*
* *

TABLE I. — MAIN BIOLOGICAL PRODUCTS

A. Vaccines

Anthrax
Bovine Lungworm *(Dictyocaulus viviparus)*
Brucellosis - (Strain 19)
- (45/20 adjuvant vaccine)
Clostridial - *C. botulinum*
C. chauvoei
C. œdematiens (2)
C. perfringens (types B, C and D) (2)
C. septicum
C. tetani
E. coli (mainly pigs and calves)
Fusiformis (sheep Foot-rot)
Johne's Disease
Leptospirosis (for dogs)
Pasteurellosis (cattle, sheep and poultry)
Salmonellosis (mainly for calves)
Swine Erysipelas (1)
Canine Distemper
Canine Hepatitis (living and inactivated)
Equine Influenza
Feline Enteritis
Rabies (for quarantine and export only) (2)
Sheep viral vaccines
- Contagious Pustular Dermatitis
- Louping Ill
- Enzootic Abortion

Bovine respiratory disease (usually a combination of adenovirus, BVD, IBR, PI3, and reovirus).
Poultry viral vaccines
- Avian Encephalomyelitis
- Duck Viral Hepatitis
- Fowl Pox
- Infectious Laryngotracheitis
- Marek's Disease
- Infectious Bronchitis
- Infectious Bursal Disease
- Newcastle Disease (live and inactivated) (1)

Foot-and-Mouth Disease (held as a strategic reserve and its use sanctioned only in certain circumstances when autorized by Agricultural Departments).

---

(1) Denotes availability of International Standard.
(2) Denotes availability of an International Reference Preparation.
For the other products, national or laboratory preparations are used for standardization or in some cases are being developed.

B. *Therapeutic antisera*

Clostridial
- *œdematiens* alpha antitoxin (1)
- *perfringens* type B antitoxin (1)
- *perfringens* type D antitoxin (1)

E. coli
Leptospirosis
Pasteurellosis
Salmonellosis
Swine Erysipelas (1)
Canine Distemper (1)
Canine Hepatitis (1)

(1) Denotes availability of International Standard.

C. *Diagnostic antigens*

Antigen	Test	Standardization
Tuberculins		
- avian	intradermal	International Standard for Avian PPD
- bovine	—	National Standard
Johnin	—	Laboratory Standard
	CF test	Laboratory Standard serum
Mallein	intrapalpebral	Laboratory Standard
	CF test	—
Brucellosis	SAT	2nd Int. Standard for anti-*Br. abortus* serum (ISAbS) to give 50% agglutination at 1/650 dilution.
	CFT	2nd ISAbS to give 50% fixation of complement at 1/220 dilution.
	MRT	(i) 3rd British National Standard added to Brucella negative milk and compared with previous batch.
		(ii) Tested against 75 MRT positive and 25 MRT negative field milk samples against previous batches.
	RBP (plate test)	2nd ISAbS to give a reaction at 1/37.5 dilution in buffered saline.
Leptospirosis	microscopic agglutination test	Reference sera from Leptospirosis Reference Laboratory and Laboratory Standard sera.
Salmonella	rapid plate test	International Standard anti-*S. pullorum* serum (Standard form S and anti-S. *pullorum* serum Variant form V).
- *S. pullorum*	tube agglutination test.	
- *S. dublin* O & H - *S. typhimurium* O, H_1 and H_2 - *S. abortus ovis* O, H_1 and H_2 - *S. abortus equi* O and H	SAT	Laboratory Standards (Commercial)

(Antigens continued)

Antigen	Test	Standardization
Campylobacter fetus	Mucous agglutination test	Laboratory Standard
Mycoplasma		
- *M. gallisepticum*	Slide agglutination HI	Anti-*Mycoplasma gallisepticum* serum 1st Reference Preparation
- *M. synoviae*	Slide agglutination HI (Ex)	Laboratory Standard
- *M. meleagridis*	Slide agglutination	Laboratory Standard
- *M. mycoides*	CFT	Laboratory Standard
- *M. hyorhinis* - *M. suipneumoniae* - *M. hyosynoviae* - *M. bovis* - *M. bovirhinis* - *M. despar* - *M. bovigenitalium*	CF	Laboratory Standard
Psittacosis/Ornithosis	CF	Laboratory Standard
Chlamydial ewe abortion		Laboratory Standard
Q Fever	CF	Laboratory Standard
Listeria monocytogenes	SAT	Laboratory Standard
Foot-and-Mouth Disease	CF SNT	Laboratory Standard
SVD	RID SNT	Laboratory Standard
Swine Fever	AGP SNT FAT	International Standard
Enzootic Bovine Leucosis (Ex)	Haematology CFT	Laboratory Standard
Equine Infectious Anaemia (Ex)	AGP	Laboratory Standard
Equine Rhinopneumonitis (Ex)	CFT	Laboratory Standard
Equine Influenza (Ex)	HI	Laboratory Standard
Equine Arteritis (Ex)	SNT	Laboratory Standard
Equine Encephalomyelitis (Ex)	CFT	Laboratory Standard
Rabies	FAT & SNT	Laboratory Standard
Blue Tongue (Ex)	CFT	Laboratory Standard
Bovine Virus Diarrhoea	SNT & CFT	Laboratory Standard
Aujeszky's (Ex)	CFT & FAT	Laboratory Standard

(Antigens continued)

Antigen	Test	Standardization
IBR	SNF & CFT	Laboratory Standard
Other bovine and porcine respiratory disease viruses (Adeno, Reo, PI3)	CFT & HI	Laboratory Standard
TGE	SNT	Laboratory Standard
HEV	SNT	Laboratory Standard
Talfan/Teschen Encephalomyocarditis	SNT	Laboratory Standard
Loúping Ill		
Avian viruses		
- Newcastle Disease	HI	International Reference Preparation
- Infectious Bronchitis	HI	Laboratory Standard
- Adenovirus		
- 127 (egg drop)	HI	Laboratory Standard
- IBH	AGP	Laboratory Standard
- CELO	AGP	Laboratory Standard
- Infectious Laryngotracheitis	AGP	Laboratory Standard
- Infectious Bursal Disease	AGP	Laboratory Standard
- Influenza	AGP HI	Laboratory Standard
- Paramyxovirus	HI	Laboratory Standard
- Reovirus	AGP	Laboratory Standard
- Infectious Avian Encephalomyelitis	SNT	Laboratory Standard
Babesiosis		
B. divergens	CFT and	Laboratory Standard
B. major	IFAT	Laboratory Standard
B. equi (Ex)	CFT	Laboratory Standard
B. caballi (Ex)		
Trypanosoma equi-perdum	CFT	Laboratory Standard

Abbreviations
SAT = Serum (tube) agglutination test
FAT = Fluorescent antibody test
IFAT = Indirect fluorescent antibody test
AGP = Agar gel precipitation test
SNT = Serum neutralization test
HI = Haemagglutination inhibition test
RID = Radial immunodiffusion
Ex = Export tests

D. *Antibiotics*

Parenteral :
- Penicillin
- Penethamate hydriodide
- Ampicillin
- Chloramphenicol
- Erythromycin
- Framycetin
- Lincomycin
- Neomycin
- Novobiocin
- Spectinomycin
- Spiramycin
- Streptomycin
- Tetracycline
- Tylosin

Intramammary :
- Penicillin
- Penethamate hydriodide
- Ampicillin
- Cloxacillin
- Bacitracin
- Cephalonium
- Cephoxazole
- Chloramphenicol
- Erythromycin
- Framycetin
- Neomycin
- Novobiocin
- Polymixin B
- Streptomycin
- Spiramycin
- Tetracycline
- Thiostrepton

1) Oral in feed :
- Penicillin
- Bacitracin
- Chloramphenicol
- Erythromycin
- Flavomycin
- Framycetin
- Griseofulvin
- Lincomycin
- Monensin
- Neomycin
- Streptomycin
- Tetracycline
- Tylosin
- Virginiamycin

2) Oral drinking water :
- Penicillin
- Chloramphenicol
- Erythromycin
- Framycetin
- Kanamycin
- Lincomycin
- Neomycin
- Spectinomycin
- Streptomycin
- Tetracycline
- Tylosin

3) Oral tablets/capsules/boluses :
- Penicillin
- Ampicillin
- Chloramphenicol
- Erythromycin
- Framycetin
- Griseofulvin
- Kanamycin
- Lincomycin
- Neomycin
- Novobiocin
- Spiramycin
- Streptomycin
- Tetracycline
- Tylosin

4) Oral drench, etc. :
- Penicillin
- Ampicillin
- Amphotericin
- Chloramphenicol
- Erythromycin
- Framycetin
- Kanamycin
- Lincomycin
- Neomycin
- Novobiocin
- Spiramycin
- Streptomycin
- Tetracycline
- Thiostrepton

Topical :
- Penicillin
- Bacitracin
- Chloramphenicol
- Framycetin
- Neomycin
- Nystatin
- Polymixin B
- Streptomycin
- Tetracycline
- Thiostrepton
- Tyrothricin

Bull. Off. int. Epiz., 1978, **89** (5-6), 239-241.

Sera and vaccines approved for use to animals in Norway (*)

All the use of sera and vaccines to animals in Norway (both Norwegian products and imported products) must be approved by the Ministry of Agriculture according to special procedures. Included in these procedures is a limited testing of the product under Norwegian conditions. Generally, a rather restrictive line is followed in Norway for the use of sera and vaccines. To the greatest extent, inactivated vaccines are preferred to live vaccines. The highest requirements for safety and efficacy are set on each product. All sera and vaccines used for animals in Norway are distributed by the National Veterinary Institute.

The various types of sera and vaccines approved for use in Norway pr. February 1978 are given in Table I.

TABLE I.

The following sera and vaccines are approved for use in Norway and are produced or imported and distributed by the National Veterinary Institute of Norway.

Sera against the following infections	Produced by
Pulpy Kidney (small ruminants)	Hœschst [1]
Pasteurella infection (small ruminants, pig, calf)	Nat. Vet. Inst. [2]
Escherichia coli + Pasteurella infection (lamb)	Nat. Vet. Inst.
E. coli infection (calf)	Nat. Vet. Inst.
Erysipelas (pig, lamb)	Nat. Vet. Inst.
E. coli infection (pigs)	Nat. Vet. Inst.
Tetanus	Nat. Inst. Public Health [3]

Vaccines against the following infections	Produced by
Distemper + Infectious Hepatitis, combined (dog)	Behringwerke [4], Wellcome [8]
Distemper, single (dog)	Behringwerke
Furunculosis (dog)	Nat. Vet. Inst.
Rabies (dog)	Nat. Vet. Inst. Finland [5]

(*) National Veterinary Institute, P.O. Box 8156, Oslo Dep., Oslo 1.

Distemper (mink and fox)	United [6]
Virus Hepatitis (fox encephalitis) (fox)	Behringwerke
Botulism (mink)	United
Botulism + Virus Enteritis, combined (mink)	United
Feline Panleucopenia (cat)	Pitman-Moore [7]
Pulpy Kidney + Malignant Oedema + Tetanus, combined (sheep)	Hœchst, Wellcome
Black Leg + Malignant Oedema + combined (sheep)	Wellcome
Braxy (sheep)	Nat. Vet. Inst.
Staphylococcal infection (lamb)	Nat. Vet. Inst.
Corynebacterium pyogenes infection (cattle)	Nat. Vet. Inst.
Escherichia coli infection (pig)	Nat. Vet. Inst., Hœchst
Erysipelas (pig)	Nat. Vet. Inst.
Pasteurellosis (lamb and pig)	Hœchst, Wellcome
Influenza (horse)	Behringwerke
Tetanus (horse)	Nat. Inst. Public Health
Avian Encephalomyelitis (chickens)	Maine [9]
Marek's Disease (chickens)	TAD [10]
Others (Papillomatosis, Pseudomonas infection)	Nat. Vet. Inst.

1) Hœchst Pharmacenticals, England
2) National Veterinary Institute of Norway
3) National Institute of Public Health, Norway
4) Behringwerke, Germany
5) National Veterinary Institute, Finland
6) United Laboratories, USA.
7) Pitman-Moore, USA
8) Wellcome Foundation, England
9) Maine Biological Laboratories, USA
10) TAD, Cuxhaven, Germany

Serological tests performed at the National Veterinary Institute, Oslo, Norway.

Disease	Test	Antigen/serum
Brucellosis (*Brucella abortus* and *Brucella suis*)	Agglutination	Own production
Brucellosis (*Brucella canis*)	Agglutination	Pitman Moore Inc., New Jersey, USA
Dourine (*Trypanosoma equiperdum*)	Complement fixation	State Veterinary Serum Laboratory Copenhagen, Denmark
Erysipelas (*Erysipelothrix rhusiopathiae*)	Agglutination	Own production
Glanders (*Pseudomonas mallei*)	Complement fixation	State Veterinary Serum Laboratory Copenhagen, Denmark
Leptospirosis (*Leptospira interrogans*)	Agglutination-lysis	Own production
Paratuberculosis (*Mycobacterium paratuberculosis*)	Complement fixation	Own production
Salmonellosis (*S. pullorum, S. typhimurium, S. haifa* o.a.)	Agglutination	Own production of antigen

Serological tests (continued)

Disease	Test	Antigen/serum
Serological typing of Salmonella cultures	Agglutination	Sera from the National Institute of Public Health Oslo and Behringswerke A.G., Marburg-Lahn, West Germany
Mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*)	Agglutination	Antigen from Intervet International B.V., Boxmeer, Holland
Avian Adenovirus Infection	Immuno-diffusion	Own production
Bovine Leukosis	Immuno-diffusion	Pitman Moore Inc.
Bovine Respiratory Syncytial Virus infection	Fluorescent antibody	Own production
Bovine Virus Diarrhea/ Mucosal Disease	Serum neutralization	Own production
Newcastle Disease	Hemagglutination inhibition	Own production
Equine Infectious Anemia	Immuno-diffusion	Pitman Moore Inc.
Equine Influenza	Hemagglutination inhibition	Own production
	Complement fixation	
Equine Rhinopneumonitis	Complement fixation (Serum neutralization)	Own production
Equine Rhinovirus infection	Serum neutralization	Own production
Hepatitis contagiosa canis (HCC) and fox Encephalitis (Adenovirus)	Complement fixation	Farbwerke Hœchst Frankfurt, West Germany
Infectious Bovine Rhinotracheitis/ Infectious Pustular Vulvovaginitis	Serum neutralization	Own production
Infectious Bronchitis	Serum neutralization	Own production
Parainfluenza - 3	Hemagglutination inhibition	Own production
Porcine Parvovirus infection	Hemagglutination inhibition	Own production
Progressive Interstitial Pneumonia (Maedi)	Complement fixation	Own production
	Immuno-diffusion	Own production
Pseudorabies	Serum neutralization	Own production
Rabies	Fluorescent antibody	Institut Pasteur, Paris, France

Bull. Off. int. Epiz., 1978, **89** (5-6), 243-248.

La standardisation des produits biologiques : une nécessité pour lutter avec efficacité contre les épizooties (*)

par

F.W. EWALD et M. MOOS (**)

La lutte contre les épidémies est indispensable pour la protection des êtres vivants sur notre planète. En tant que mesure de sécurité sanitaire, elle est placée sous la surveillance de l'Etat depuis des années dans tous les pays développés. Mais la tendance de l'homme à établir des priorités, a fait que son attention s'est d'abord portée sur les grandes maladies contagieuses, telles que la Variole, la Diphtérie et le Choléra.

Les premiers modes de lutte ont été l'isolement, la mise en quarantaine des hommes soupçonnés de maladies ou déjà malades; mesures déjà citées dans les textes qui nous ont été légués depuis les premières années du christianisme. Seule la découverte des germes microbiens comme cause des épidémies pouvait conduire aux conceptions qui devaient permettre de les éviter. Dès que furent devenues possibles la multiplication, l'atténuation ou la destruction des agents pathogènes, et de ce fait, la vaccination de groupes importants de population, on a pu parvenir à une amélioration de la situation sans toutefois aboutir à une liquidation des épidémies. Ceci provenait du fait que les vaccinations étaient effectuées selon des méthodes différentes d'une région à une autre ou d'une nation à une autre. On a sous-estimé longtemps le rôle joué par les animaux comme réservoirs et véhicules d'agents pathogènes dans l'extension

---

(*) Traduction du rapport original intitulé : « Standardisierung biologischer Produkte - ein Erfordernis wirksamer Tierseuchenbekämpfung ».

(**) F.W. EWALD, Directeur et Professeur, Institut Paul-Ehrlich; M. MOOS, Conseiller scientifique, Institut Paul-Ehrlich; Paul-Ehrlich-Strasse 42-44, 6000 Frankfurt/Main 70, R.F.A.

des épizooties. C'est en 1930 que parut pour la première fois en Allemagne un ouvrage spécial, intitulé : « Dispositions pour la lutte contre la Psittacose et autres maladies transmissibles », qui instituait, sur le plan national, des mesures de lutte contre une zoonose. En outre, la constatation du double rôle de récepteur et de vecteur de maladie que l'homme et l'animal pouvaient jouer, pour la Tuberculose par exemple, a été essentielle. Par la suite, l'étude des zoonoses et la lutte contre les épizooties occupèrent une place toujours plus importante. Ainsi, la Rage qui menace de la même manière tous les animaux à sang chaud et provoque des vagues épizootiques, s'arrêtant tout au plus aux frontières naturelles, a valeur d'exemple dans le domaine vétérinaire, en ce qui concerne l'impuissance des nations luttant isolément contre les épizooties. Lorsqu'à sa fondation, en 1948, l'O.M.S. plaça en tête de son programme d'action, la sauvegarde de la santé des peuples des Etats-membres, ce fut le « plus grand dénominateur commun » du désir politique et sanitaire de ces Etats. Ce programme impliquait également la sauvegarde de la santé animale qui apparaissait toutefois comme relevant en priorité des attributions nationales. C'est un peu plus tard qu'apparut la dimension supranationale, avec par exemple, la menace de l'épizootie de Rage débordant les frontières. D'après son statut, l'O.M.S. est seulement chargée des tâches que ses Etats-membres ne peuvent pas résoudre eux-mêmes avec leurs statuts et leur règlements. Pour sauvegarder l'efficacité de l'O.M.S. — un travail de délimitation des compétences ne pouvant suffire — une coopération internationale est donc nécessaire pour résoudre tous les problèmes dont le moindre n'est pas celui des priorités d'utilisation de moyens financiers, toujours limités.

Chacun sait que les résultats actuels des expériences biologiques sont soumis à d'extraordinaires variations qui nuisent à la répétition des résultats. Cela est également valable pour la recherche de l'efficacité d'un sérum, d'un vaccin ou d'un antigène. Parmi les nombreuses influences incontrôlables qui surviennent lorsqu'on éprouve un vaccin, il convient de mentionner notamment la variabilité des animaux réagissants, leur différence de sensibilité moyenne selon les saisons, l'influence du temps, ou des différences du régime alimentaire. Ces influences sur le résultat d'une préparation sont éliminées quand on a affaire à une préparation standard, c'est-à-dire à l'utilisation du « principe standard général », comme l'a enseigné PRIGGE en 1935. C'est pourquoi la préparation qui sert d'unité de mesure est toujours titrée en même temps et dans les mêmes conditions que la préparation à mesurer, les résultats obtenus étant ensuite corrigés

à l'aide de préparations normalisées. Il va de soi que l'efficacité d'une préparation standard utilisée pour un tel mode de titrage doit rester inchangée. Sa valeur est admise par définition ou par comparaison avec une préparation normalisée déjà disponible. De plus, il faut prendre en considération le fait que, par exemple, les courbes d'efficacité des doses obtenues lors du titrage comparatif d'un vaccin à évaluer, se développent parallèlement au vaccin standard; en d'autres termes, les méthodes pour juger de l'efficacité de produits à comparer ne doivent pas être différentes. En outre, il conviendrait de disposer d'un faible écart dans les résultats obtenus entre les groupes d'animaux, au cours des épreuves de protection, et la valeur réelle de ces produits. Ce résultat peut être obtenu, s oit par l'accroissement du nombre d'animaux par dose, soit par une grande variabilité du matériel animal, soit par l'utilisation de groupes d'animaux homogènes (mais il faut toujours garder à l'esprit la préoccupation de la protection animale), ce qui pourrait alors permettre une diminution du nombre des animaux. La rigueur d'une méthode efficace et la diminution des marges d'erreur possible qui en résultent augmentent avec la qualité du matériel animal utilisé. Le schéma présenté à la fin de ce rapport peut fournir des informations sur d'autres facteurs qui peuvent influencer les résultats.

La tâche des Instituts expérimentaux nationaux (pour la République Fédérale, c'est l'Office Fédéral pour les sérums et les vaccins : l'Institut Paul-Ehrlich de Francfort/Main) est donc de maintenir intactes de telles préparations normalisées, de veiller à leur continuité, de garantir la livraison aux offices compétents et d'obtenir de nouvelles préparations standard en s'appuyant sur la collaboration nationale et internationale.

Les bases du contrôle d'efficacité des produits immunologiques brièvement décrites ici représentent la composante essentielle des prescriptions nationales concernant les sérums, les vaccins et les antigènes. Il existe déjà des préparations standard pour un certain nombre de préparations vétérinaires. Pour des raisons historiques, rappelons que le vaccin-standard contre le Rouget du porc de l'Institut Paul-Ehrlich fut reconnu comme préparation normalisée internationale en 1955; la préparation normalisée allemande pour des vaccins contre le Rouget du porc fut également adoptée sur le plan international en 1959. Il nous faut également mentionner parmi les mesures sanitaires prises contre la Tuberculose bovine, l'introduction d'une tuberculine bovine mise au point et fabriquée par l'Institut Paul-Ehrlich.

C'est grâce à cette tuberculine parfaitement standardisée que l'on a pu, grâce aux connaissances épidémiologiques nouvelles, obtenir une éradication quasi complète de cette épizootie, méthode qui a relayé le mode d'assainissement pratiqué jusqu'alors d'après les travaux d'OSTERTAG. Cet exemple nous montre l'importance des mesures et des méthodes standardisées pour l'éradication des épizooties. Il faut, si possible, avoir pour objectif l'élaboration de méthodes rigoureuses pour la fabrication et l'examen des nombreux produits servant à la lutte contre les épizooties ainsi que pour l'adoption de ces mesures à l'échelon national.

Citons ici comme exemple l'adoption dans la Pharmacopée européenne de monographies traitant des exigences auxquelles sont soumis la fabrication et l'examen des vaccins vivants ou des sérums à usage vétérinaire tels que ceux utilisés pour la Maladie de Newcastle et la Bronchite Infectieuse aviaire. En outre, les recommandations tendant à mettre à la disposition des utilisateurs d'autres matériels de référence que les vaccins standard déjà cités, comme certaines souches de virus, constituent d'importantes mesures pour la standardisation. On peut aussi citer ici, comme exemple, la lutte contre la Rage par la vaccination, pour laquelle les souches en cause sont disponibles dans des laboratoires sélectionnés (de référence). Enfin, les efforts de standardisation se portent également sur l'utilisation d'animaux indemnes de maladies spécifiques (SPF) pour traiter les problèmes d'étiologie, de surveillance des fabrications et de contrôle des vaccins. D'autre part, obtenir sous contrôle un tel matériel animal présuppose des méthodes témoins standardisées, avec utilisation d'antigènes témoins, de sérums témoins ou de souches témoins déterminés.

*
* *

RÉSUMÉ

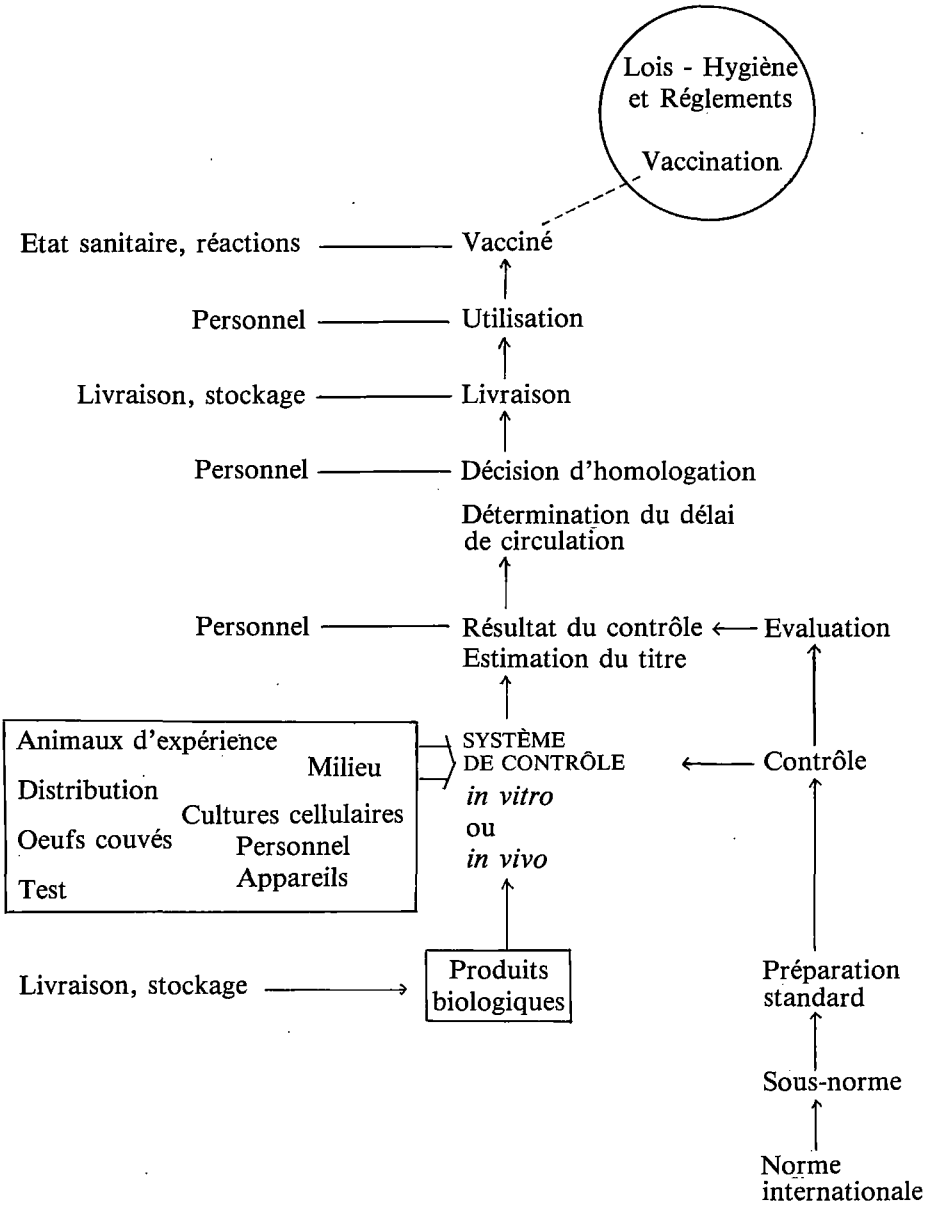
La lutte internationale contre les épizooties n'est pas possible sans collaboration à l'échelle mondiale. C'est pourquoi il est indispensable de standardiser tant les méthodes que les produits biologiques de référence nécessaires au contrôle. Des préparations standard servent aux épreuves de contrôle et à la préservation de la qualité des produits biologiques.

En présentant l'évolution de l'efficacité d'un vaccin par référence à une préparation standard, il est fait mention, au-delà du « principe standard spécial » de Paul EHRLICH datant de 1897, du « principe standard général » de PRIGGE datant de 1935. Les considérations théoriques s'y rapportant sont exposées ici.

Des mesures et des méthodes standardisées devraient être mises au point en même temps que l'utilisation de produits biologiques standardisés. En prenant pour exemple un contrôle de produits biologiques, on montre, à l'aide d'un schéma, quels sont les facteurs qui interviennent.

*
* *

TABLEAU RÉCAPITULATIF : CONTRÔLE DES PRODUITS BIOLOGIQUES, COMME CONTRIBUTION A LA LUTTE CONTRE LES ÉPIZOOTIES.



Bull. Off. int. Epiz., 1978, **89** (5-6), 249-254.

Le contrôle des produits immunobiologiques en Suisse (*)

par

U. KIHM et W. BOMMELI (**)

Les instructions relatives aux produits immunobiologiques à usage vétérinaire sont fixées dans l'article 27 de la Loi du 1er juillet 1966 sur les épizooties. Il en ressort que la fabrication, l'importation et la vente de produits immunobiologiques à usage vétérinaire sont soumises au contrôle de l'Office Vétérinaire Fédéral.

Les exigences concernant les personnes et les firmes qui s'occupent de ces produits sont arrêtées par le Conseil Fédéral. En outre, l'article 27 signifie que les instituts publics et privés de même que les personnes qui gardent des microorganismes pathogènes ou travaillent dessus doivent prendre toutes les mesures nécessaires afin qu'il n'en résulte aucun dommage pour les hommes et les animaux. Ils sont responsables en cas de dommages.

Les particularités concernant les produits immunobiologiques sont également retenues dans l'article 24 de l'ordonnance de la Loi fédérale datée du 15 décembre 1967 sur la lutte contre les épizooties. Il y est dit, entre autres, que « la fabrication professionnelle, l'importation, la vente et l'utilisation de produits immunobiologiques pour animaux, de même que l'importation de cultures de microorganismes pathogènes sont soumises au contrôle de l'Office Vétérinaire ». En outre, les entreprises spécialisées dans le travail sur des microorganismes pathogènes ou qui fabriquent, importent ou vendent des produits immunobiologiques doivent demander une autorisation. Seuls peuvent être appliqués aux animaux les produits immunobiologiques dont l'utilisation est autorisée par l'Office Vétérinaire. Tous les produits immunobiologiques doivent donc être autorisés et enregistrés

---

(*) Traduction du rapport original intitulé : « Die Kontrolle immunobiologischer Erzeugnisse in der Schweiz ».

(**) Institut Vaccinal Fédéral, Hagenaustrasse 74, 4000 Bâle 25.

par l'Office Vétérinaire. Il faut joindre toutes les pièces justificatives à la demande d'enregistrement, notamment sur le matériel de base, le processus de fabrication et de contrôle, l'étiquetage et les prospectus.

Les produits doivent être inoffensifs et ne doivent contenir aucun microorganisme malsain. Ils doivent posséder une valeur prophylactique, thérapeutique ou diagnostique certaine.

La liste des produits enregistrés par l'Office de contrôle est publiée, sur déclaration de la firme de vente, dans le bulletin de la Société des Vétérinaires Suisses, et est complétée chaque année.

Sont exclus de l'obligation d'enregistrement les produits suivants :

a) Produits pour diagnostics de laboratoire.
b) Produits pour expériences officiellement autorisées.
c) Produits fabriqués uniquement utilisés dans une certaine exploitation (vaccins spécifiques pour certaines étables).

La multiplicité des réactifs pour le diagnostic de laboratoire, surtout introduits sur le marché au cours des dix dernières années, rend impossible tout contrôle tant administratif que scientifique. Cependant, les instituts qui gardent de tels réactifs ou les manipulent sont responsables des dommages éventuels.

Les vaccins spécifiques pour certaines étables sont des produits fabriqués à partir de matériel d'une exploitation à problèmes. Il s'agit donc la plupart du temps de types spéciaux de bactéries ou de sous-types comme *E. coli,* leptospires, etc. rendus responsables d'une maladie, sur la base d'un diagnostic pathologique et bactériologique. Comme un tel vaccin n'est utilisé que dans une seule exploitation, un contrôle officiel n'est pas nécessaire.

Contrôles en cours des produits enregistrés

La firme de fabrication et d'importation doit envoyer à l'Office de contrôle des échantillons de chaque série de fabrication d'un produit enregistré et destiné à la vente. On teste leur stérilité, leur innocuité et leur efficacité au moyen de prélèvements. Les établissements qui vendent des produits immunobiologiques doivent effectuer un contrôle sans défaillance sur la fabrication, la commande, l'examen et la livraison de produits immunobiologiques et les mettre à la disposition des organes de la police des épizooties.

Ce contrôle garantit que les produits peuvent être renvoyés à tout moment. Cela serait avant tout nécessaire pour déceler un manque

d'efficacité ou une innocuité insuffisante. Les produits immunobiologiques ne doivent du reste être remis qu'aux autorités compétentes et aux vétérinaires.

Les produits importés ou fabriqués dans le pays même sont traités de la même manière, en ce qui concerne le contrôle. Les produits immunobiologiques doivent être accompagnés d'un certificat officiel. Le bureau des douanes tamponne le certificat d'accompagnement et le remet à l'Office de contrôle. L'importation des produits dont la standardisation doit être garantie par le mode de fabrication, l'utilisation de souches locales ou de celles remises par l'Office de contrôle sont en principe interdites. Il en est ainsi à l'heure actuelle pour la tuberculine et les vaccins contre le Charbon symptomatique.

Environ 180 produits divers sont actuellement autorisés et enregistrés en Suisse.

Au Tableau I sont rassemblés les produits immunobiologiques les plus importants utilisés en prophylaxie, en thérapeutique ou pour les diagnostics.

TABLEAU I.

Principaux produits immunobiologiques autorisés en Suisse (vaccins, sérums, diagnostics)

BOEUF	MOUTON/CHÈVRE	PORC
E. coli	Ecthyma	*E. coli*
Leptospirose	Entérotoxémie	*Haemophilus*
Strongylose	Fièvre Aphteuse	*parahaemolyticus*
pulmonaire	Piétin	Fièvre Aphteuse
Charbon bactéridien	Rage	Rouget
Fièvre Aphteuse		
Parainfluenza-3		
Pasteurella	CHIEN	CHAT
Variole		
Charbon symptomatique	Hépatite	Calici
et parazymptomatique	Leptospirose	Herpès
Grippe bovine	Rougeole	Leucopénie
Tétanos	Parainfluenza	Rage
Rage	Maladie de Carré	
Tuberculine	Rage	
		VOLAILLES
	CHEVAL	A.E.
		Maladie de Gumboro
	Grippe	Variole des canaris
	Rhinopneumonie	Maladie de Marek
	Rage	

Ne sont pas indiqués les vaccins de cultures microbiennes à germes très largement répandus, les sérums de culture et autres produits à stimulateurs non spécifiques du système immunitaire.

70 % environ des produits sont importés et 30 % sont fabriqués en Suisse même.

On lutte autrement qu'au moyen d'une immunoprophylaxie contre des maladies telles que la Rhinotrachéite Bovine, la Brucellose, la Maladie de Newcastle, la Maladie d'Aujeszky et la Peste Porcine. Les produits contre les maladies citées ne peuvent donc pas être vendus en Suisse. Le vaccin anti-aphteux ne doit être appliqué qu'au-delà de l'Etat.

Les contrôles de stérilité, d'innocuité et d'efficacité sont effectués de la façon suivante :

Stérilité :

La mise en évidence de l'absence de bactéries, de champignons ou de mycoplasmes est effectuée dans un système *in vitro*. La détection de virus étrangers est très problématique et on ne l'entreprend couramment que pour les vaccins aviaires.

Innocuité :

Ces tests devraient en principe être appliqués de la même façon que le produit utilisé dans la pratique. Mais, pour des raisons de coût, les animaux de laboratoire doivent, la plupart du temps, être soumis au contrôle de routine où l'on change la dose et le mode d'application.

Efficacité :

a) Le produit est administré à tout animal pour lequel le vaccin ou le sérum est prescrit. Passé dans un certain temps, on vérifie la protection à l'aide d'une contamination d'épreuve. Ce contrôle est très coûteux et nous ne l'effectuons couramment que pour les vaccins anti-aphteux. Les animaux de laboratoire tiennent très souvent lieu d'animaux d'expérience dans de tels tests d'efficacité, après qu'une corrélation ait été établie entre l'animal domestique et l'animal de laboratoire, en ce qui concerne l'immunité. Nous testons l'efficacité des vaccins contre le Rouget du porc et des vaccins antirabiques inactivés sur des souris, et des vaccins contre le Charbon symptomatique sur des cobayes.

b) Le produit est administré à tout animal pour lequel le vaccin ou le sérum est prescrit. Deux à quatre semaines plus tard, on prélève un échantillon sanguin et l'on mesure le titre d'anticorps. On peut également utiliser des animaux de laboratoire comme animaux d'expérience lors de ce test. Avec cette méthode, on ne peut toutefois mesurer qu'un seul paramètre de l'immunité. Il faut apprécier la capacité de protection par rapport à lui. Nous testons par exemple selon cette méthode des vaccins contre la Grippe, la Maladie de Carré ou *Haemophilus parahaemolyticus.*

ç) Le contenu d'anticorps ou de sérum d'une dose de vaccin est vérifié sans qu'un animal soit vacciné. Cette méthode ne révèle rien sur la protection ou le pouvoir immunogène et ne peut ainsi être acceptée qu'en présence d'autres preuves de la capacité de protection. Nous vérifions par exemple des vaccins vivants antirabiques ou antiherpétiques de cette manière.

Si des problèmes particuliers se présentent à propos de l'examen des produits immunobiologiques, nous disposons alors de spécialistes, dans les deux Facultés de Médecine Vétérinaire, auxquels peuvent être passées des commandes spécifiques. On fait avant tout appel à cette aide consultative à l'occasion de l'enregistrement d'un nouveau produit.

Dans notre pays, le contrôle des préparations immunobiologiques se fait avec un matériel et un personnel minimes. Une convention internationale, dans laquelle les contrôles nationaux des produits seraient prescrits dans le pays producteur, serait vraiment bienvenue. Les offices de contrôle nationaux examineraient les produits immunobiologiques fabriqués dans leur propre pays et communiqueraient en même temps leurs méthodes d'examen aux autres Etats qui importent le produit mentionné. On pourrait ainsi, d'une part éviter des examens en double, et d'autre part, améliorer la qualité de ces examens. La franchise et la confiance réciproques seraient en effet une priorité absolue.

*
* *

RÉSUMÉ

En Suisse, les produits immunobiologiques à usage vétérinaire ne doivent être fabriqués, importés et vendus que par des entreprises

agréées par l'Office Vétérinaire Fédéral. Tous les produits doivent être autorisés et enregistrés par l'Office Vétérinaire Fédéral, à l'exception des produits destinés au diagnostic de laboratoire et des produits spécifiques pour certaines étables. Des échantillons de chaque lot vendu en Suisse sont communiqués à l'Office de contrôle pour être examinés au moyen de prélèvements. Les produits doivent être inoffensifs et ne doivent contenir aucun microorganisme malsain. Ils doivent posséder une valeur prophylactique, thérapeutique ou diagnostique certaine.

Bull. Off. int. Epiz., 1978, **89** (5-6), 255-269.

État actuel de la recherche sur les méthodes du contrôle de la valeur des produits biologiques dans la prophylaxie des maladies clostridiales

par

R.V. KATITCH (*)

La très large utilisation des produits biologiques dans le diagnostic, le traitement et la prophylaxie des maladies infectieuses implique l'étude des méthodes déjà en usage pour leur contrôle, mais aussi la recherche de méthodes nouvelles en fonction de l'évolution des connaissances scientifiques.

Un tel programme apparaît comme d'autant plus nécessaire que parfois les diverses méthodes en usage donnent des résultats différents les uns des autres.

Il va de soi que l'efficacité de la lutte contre les maladies infectieuses exige que les produits biologiques mis en œuvre soient éprouvés par des méthodes qui garantissent leur valeur antigénique ou thérapeutique.

Il convient de souligner au début de cet exposé qu'il s'agit là d'un problème très complexe. Sa solution demande la connaissance de facteurs nombreux dont la nature n'est souvent pas encore suffisamment connue.

Il est en effet difficile, dans le cadre de cette complexité, de dire ce qui est le plus important, de la connaissance de l'épizootologie de la maladie ou de la nature de son agent pathogène.

(*) Président de la Commission permanente de l'O.I.E. pour l'étude des Maladies causées par les Anaérobies.

Quoiqu'il en soit de la biologie et des propriétés de cet agent pathogène, c'est l'efficacité des produits utilisés pour le diagnostic, le traitement et l'immunoprophylaxie qui apparaît en définitive comme ayant l'importance la plus grande.

Quelque soin malheureusement que l'on apporte à l'amélioration des méthodes déjà existantes pour le titrage des différents produits biologiques, on fait parfois des observations contradictoires. Ces observations ne sont pas imputables à une défaillance technique, mais à une connaissance encore insuffisante de la biologie de l'agent pathogène et de son rôle dans la pathogénie de la maladie.

On est ainsi amené à considérer la nature biochimique même et les possibilités de variations d'un test et du produit biologique en cause.

Sans doute est-il possible d'éviter, ou au moins parfois de réduire, l'incidence des variations mais dans certains cas elles n'en persistent pas moins.

Ces considérations montrent que la question posée par l'établissement de normes standards est très complexe et qu'en l'espèce une coopération internationale est nécessaire.

Il ressort également de l'ensemble de cette situation que les méthodes de contrôle de la valeur des produits biologiques doivent constituer l'objet d'une recherche permanente poursuivie à la lumière de l'évolution incessante des connaissances scientifiques.

Dans cet esprit, l'O.I.E. a apporté depuis plus de vingt ans une attention toute particulière à l'étude des méthodes standards pour le contrôle de la valeur des produits biologiques en vue du diagnostic, de la prophylaxie et du traitement des maladies.

Etant donné que les Rapports présentés à cette Conférence englobent l'ensemble du problème posé par cette question dans les différentes maladies, je me bornerai ici à présenter la situation actuelle pour ce qui concerne les maladies clostridiales.

Pour l'étude de cette question, la Commission permanente de l'O.I.E. pour l'étude des Maladies causées par les Anaérobies, sous les auspices du Bureau de la Commission pour l'étude des Normes des Produits Biologiques approuvées par l'O.I.E., en collaboration avec l'Association Internationale de Standardisation Biologique de l'Association Internationale des Sociétés de Microbiologie, a organisé en 1975 un Symposium au niveau international, dans le but d'établir des Normes standards pour le titrage des vaccins et sérums

contre les maladies anaérobies, normes qui, après adoption, doivent être incluses dans le Code Zoo-sanitaire International de l'O.I.E. dans une section spéciale.

En étudiant les recommandations faites en 1959, conformément à l'objectif ainsi défini par les Statuts Organiques de l'O.I.E. : « Promouvoir et coordonner toutes recherches ou expériences intéressant la pathologie et la prophylaxie des maladies épizootiques pour lesquelles il y a lieu de faire appel à la collaboration internationale », notre Commission a toujours considéré au cours de son travail la nécessité de procéder à des études concernant les différents problèmes de cette pathologie et, entre autres, les problèmes de l'immunoprophylaxie, de l'antibiothérapie, etc. des maladies des anaérobies.

Pour la coordination indispensable, et notamment pour éviter un double emploi des travaux en matière de standardisation entre les Commissions permanentes de l'O.I.E. sur les Maladies causées par les Anaérobies et sur les Normes des Produits Biologiques, une étroite collaboration a été instituée entre ces Commissions. Grâce à l'aide du Bureau de la Commission pour l'étude des Normes, cette collaboration est, au cours des derniers temps, devenue dans ce but plus étroite et le résultat de cette collaboration s'est concrétisé par le Symposium tenu en 1975 à Paris, qui a permis de réunir les plus éminents spécialistes du monde, les meilleurs connaisseurs de ces problèmes.

La raison fondamentale de la convocation de cette Réunion a été les disparités qui existent dans les différentes Régions du monde en ce qui concerne l'appréciation de la valeur immunogène des vaccins contre les infections clostridiales. Grâce aux informations recueillies par le Docteur DAVIDSON dans 23 pays, à la suite d'une enquête sur l'emploi, le contrôle et la spécification des sérums et vaccins vétérinaires contre les infections clostridiales, nous avons vu l'importance des différences existantes.

Je ne veux pas vous lasser par l'énumération des données récentes de la bibliographie concernant l'étiologie de certaines des maladies causées par les anaérobies clostridiales. Il est bien évident pour nous que les conceptions classiques sur ce sujet sont aujourd'hui insoutenables. Ainsi, les connaissances anciennes du rôle de certaines bactéries dans l'épizootologie de ces maladies ont été complétées par des découvertes récentes qui attestent leur importance aussi bien en Médecine vétérinaire qu'en Médecine humaine. Je vous rappelle ces faits parce qu'ils sont très importants pour l'établissement des

recommandations concernant des normes standard internationales pour les vaccins et sérums utilisés contre les maladies causées par les clostridies, car malheureusement très souvent nous nous trouvons encore sur des positions différentes concernant la question de l'immunoprophylaxie et du contrôle des produits biologiques.

L'étiologie diverse des maladies causées par les anaérobies dans les différentes Régions du monde ne permet pas toujours de prévenir radicalement ces maladies par l'étude d'un vaccin préparé d'une manière standardisée en utilisant des souches considérées comme habituelles. C'est la raison pour laquelle la vaccination, dans cette situation, ne donne pas des résultats satisfaisants. Tout cela démontre que la préparation du vaccin doit se faire en fonction de la situation épizootologique particulière en cause.

Il est vrai que nous avons aujourd'hui à notre disposition différents vaccins. Malheureusement, et bien que certains d'entre eux confèrent une bonne immunité, car ils sont préparés avec de bons antigènes, il est constaté quelquefois qu'ils ne protègent pas les animaux vaccinés, car ils ne sont pas préparés en fonction de la situation épizootologique particulière.

Les progrès faits pour une meilleure connaissance de l'étiologie des maladies causées par les anaérobies ont été la cause indirecte de l'apparition de nouveaux moyens prophylactiques contre ces maladies, naturellement avec des méthodes de préparation différentes et des valeurs immunogènes différentes. C'est la raison pour laquelle la question des méthodes de préparation, impliquant, par là même, la valeur immunogène des vaccins contre ces maladies, présente aussi de l'intérêt pour nous. Comme nous l'avons déjà dit, on utilise des méthodes qui varient d'un pays à l'autre. Bien que toutes ces méthodes donnent dans l'ensemble des valeurs analogues, il existe néanmoins des différences. Naturellement, pour porter un jugement exact, il est nécessaire d'utiliser les mêmes méthodes. Nous savons que cette question est assez compliquée, et même qu'il est impossible de la résoudre dans une Réunion comme celle-ci dont les objectifs de travail ont été fixés. Je mentionne cela parce qu'il s'agit d'un problème qui est très étroitement lié à la question de la valeur immunogène des vaccins.

En somme, l'ensemble de ces faits montre que les différents laboratoires qui se livrent aux recherches sur les problèmes de l'immunoprophylaxie déploient une activité incessante, avec compétence et enthousiasme, sur les questions les plus délicates de l'immuno-

prophylaxie concernant cette pathologie. Malgré tout, beaucoup d'obscurités persistent encore notamment en raison de la plasticité bien connue des germes mais, comme dans beaucoup d'autres domaines, il est un facteur de réussite qui ne peut être négligé, c'est la collaboration entre les hommes de laboratoire et ceux qui travaillent sur le terrain. Il est nécessaire que la connaissance des faits nouvellement acquis se répande davantage et que les échanges directs d'information qui font tout l'intérêt des conférences internationales soient facilités.

Notre temps étant limité, j'essaierai de vous donner les informations générales à ce sujet qui nous semblent les plus intéressantes.

Les méthodes officielles de contrôle des vaccins contre les Entérotoxémiés des moutons ont un caractère doublement indirect, en ce sens, d'une part, qu'elles s'effectuent sur des animaux qui ne sont pas ceux auxquels le vaccin est destiné et que, d'autre part, elles testent uniquement une réaction immunologique sérique. Notre Commission pour les Normes des Produits Biologiques a proposé d'adopter comme méthode standard pour le titrage de l'antitoxine bêta et epsilon la méthode décrite dans le Codex britannique (2).

La question de l'immunoprophylaxie des infections à *Cl. œdematiens* B *(Cl. novyi)* et type D *(Cl. haemolyticum)* a, ces derniers temps, attiré l'attention des spécialistes vétérinaires. Les difficultés provenant de leur diagnostic concernant le typage, sont actuellement diminuées depuis qu'on utilise la méthode basée sur l'utilisation des anticorps immunofluorescents.

Aux Etats-Unis, des normes ont été adoptées, établissant des exigences minimales pour le contrôle des vaccins à *Cl. œdematiens* appartenant à deux types : type B et type D. Les titrages sur cobayes ont fourni des résultats qui varient grandement selon l'origine des animaux. Les essais rapportés sont destinés à déterminer l'efficacité des vaccins contre les infections à *Cl. œdematiens* (B et D) en fonction de l'animal d'épreuve : cobayes, moutons et bovins. Ils établissent en outre un parallélisme entre le taux sérique de l'antitoxine et l'immunité dont jouit l'animal. Le taux de l'antitoxine chez les animaux vaccinés qui protège contre l'infection doit être chez le lapin 3,5 UA et le cobaye 15 UA.

Cl. septicum comme antigène s'utilise habituellement dans les vaccins mixtes sous forme d'anaculture de bouillon, mais nous sommes informés sur la possibilité de l'utilisation sous forme de toxoïde

(anatoxine), par culture de *Cl. septicum* dans des conditions contrôlées de manière à produire des taux élevés de toxine alpha. La toxine toxoïdée est concentrée par ultrafiltration. Toxoïdée, la toxine alpha conserve ses propriétés immunisantes. Exprimé en Pouvoir de Combinaison Total, le toxoïde concentré présent dans les produits anticlostridiaux monovalents ou polyvalents protège le lapin contre une contamination d'épreuve directe avec des spores de *Cl. septicum*. La toxine alpha toxoïdée produit des taux d'antitoxine supérieurs aux minima habituels.

Le pouvoir immunogène des vaccins contenant *Cl. septicum* a été évalué sur souris, hamsters, cobayes, lapins et ovins afin d'établir les normes d'activité requises pour ce vaccin.

Pour le titrage de l'antitoxine *Cl. septicum* chez les animaux vaccinés on recommande la méthode décrite dans le Codex britannique.

J'aimerais appeler ici l'attention sur les résultats des recherches relatives au vaccin contre l'infection à *Cl. septicum* préparé à base d'anatoxine (filtrat de culture en bouillon formolée), bactérine dont l'utilisation est très répandue en Amérique.

D'après les règlements du Service Vétérinaire, l'épreuve de la valeur immunogène du vaccin se fait par la méthode décrite dans le « Code of Federal Regulations ». Selon les renseignements communiqués, deux injections appliquées s/c. induisent une résistance à l'infection d'épreuve par voie i.m. au moyen de spores. Chez la souris, le hamster et le cobaye, la protection s'établit généralement à des titres peu élevés, de l'ordre de 1 à 5 DL_{50}. A ces titres d'infection d'épreuve, les évaluations de l'activité démontrent un certain degré de relation entre la réponse des lapins et celle des ovins. Cette relation est confirmée quand l'infection d'épreuve est plus sévère (de 5 à 500 DL_{50}).

Les bactéries (anatoxine-toxoïde) non diluées sont classées comme bonnes ou faibles en fonction du pourcentage des réactions de survie chez les ovins. Les bactérines induisant 90 à 100 % de survie sont considérées comme bonnes, celles induisant 30 à 57 % de survie comme faibles. Chez les lapins cette classification paraît moins évidente avec les bactérines non diluées. La dilution des bactérines à 1:32 procure un niveau de discrimination pour 7 bactérines sur les 8 examinées et présente une corrélation entre les réponses des ovins et des lapins. Une relation similaire fut mise en évidence entre les protections des ovins contre l'infection d'épreuve par les spores et la

réponse en antitoxines des lapins aux bactérines non diluées. Les réponses en antitoxines, lorsqu'elles sont obtenues, sont généralement plus élevées chez les lapins que chez les ovins. L'évolution ultérieure d'une bonne et d'une faible bactérine sur lapins indique qu'il n'existait pas de relation directe entre le titre des antitoxines chez les lapins et la résistance à l'infection d'épreuve par les spores, lorsqu'on les compare à des dilutions identiques de bactérines.

L'évaluation des réponses de séroagglutination aux antigènes somatiques des types I et II indique une relation plus marquée entre la réponse d'agglutination et la résistance à l'infection d'épreuve par les spores, aussi bien chez les ovins que chez les lapins. Il fut montré que les anatoxines-toxoïdes de *Cl. septicum* induisent chez les lapins une résistance à l'infection par les spores.

La bactérine de *Cl. septicum* peut s'utiliser avec succès même avec l'anaculture de *Cl. chauvoei* pour la vaccination contre le Charbon symptomatique et avec les autres antigènes clostridiaux comme composant dans les vaccins mixtes (4).

La méthode existant pour le titrage du vaccin contre l'infection à *Cl. chauvoei* a été l'objet de très larges discussions. Elles nous ont démontré quelle discordance existe entre le test d'efficacité prescrit dans le Codex britannique et le Standard Requirement pour le vaccin contre *Cl. chauvoei.*

Maladie tellurique, le Charbon symptomatique voit sa prophylaxie essentiellement basée sur la vaccination annuelle. Mais à cause de l'évolution des méthodes d'élevage et comme conséquence de la sélection des veaux de gros volume, on observe des répercussions sur la réceptivité au Clostridium du charbon accompagnées d'une immunodépression chronique. La suralimentation, qui vise à une croissance pondérale accélérée, facilite les désordres digestifs tandis qu'un surpeuplement des herbages ne peut que multiplier le taux des risques d'apparition de la maladie. A la cause de ces prédispositions chez l'animal s'ajoute, en ce qui concerne *Cl. chauvoei,* l'apparition de nouvelles espèces reconnues dans les isolements effectués à partir des cas de Charbon symptomatique. On rencontre souvent *Cl. septicum* à côté de *Cl. chauvoei,* les deux germes se ressemblent beaucoup mais diffèrent par leurs propriétés immunologiques et ne confèrent pas de protection croisée. On rencontre aussi souvent *Cl. sordellii* et *Cl. œdematiens* dans le Charbon symptomatique. Si l'on isole un *Cl. chauvoei,* il convient de déterminer si cette souche est une variante afin d'éviter une non-couverture vaccinale. Lors

d'autres infections clostridiales, l'immunité antitoxique est fondamentale et une variation de souche plus ou moins immunogène peut intervenir, les propriétés immunogènes étant plus ou moins liées à un antigène thermosensible. On sait encore que la protection conférée par un vaccin est meilleure si l'épreuve post-vaccinale est effectuée avec une souche homologue. Une protection efficace n'est fournie que par les vaccins contenant des bactéries comportant un antigène thermostable, en plus de l'antigène thermostable commun à toutes les bactéries de *Cl. chauvoei*. Il est important de sélectionner de telles souches pour l'infection d'épreuve des animaux vaccinés dans les tests de contrôle de la valeur immunogène des vaccins contre le Charbon symptomatique. D'après la recommandation de MACHEAK on doit utiliser les spores conservées dans l'ampoule contenant la suspension glycérinée (souche F) agitée pendant plusieurs heures avant la préparation de ces dilutions en solution physiologique. Juste avant l'inoculation, on mélange à part chaque dilution de spores avec une solution de chlorure de calcium à 5 %. L'injection est faite par la voie i/m sous un volume de 0.5 ml. D'après la Pharmacopée Européenne, 100 % des animaux vaccinés avec deux injections (dose bovine) doivent survivre à l'infection avec des spores virulentes de *Cl. chauvoei* (épreuve 14 jours après la 2e injection). D'après le Codex britannique, on recommande le même procédé de recherche. D'après le Codex des U.S.A., deux injections à quantité de 0,2 dose bovine, infection 14 jours après la 2e injection avec des spores contenant 100 DL_{50}; sur 16 animaux, il doit y avoir moins de 4 morts. D'après la méthode utilisée en France (méthode de BASSET), 1 seule dose bovine, épreuve après 15 jours (1 2 DMM, souche entretenue par hémoculture, les animaux doivent survivre à 100 % (5).

Cet exemple nous démontre clairement les différences qui existent dans les méthodes utilisées pour la recherche de la valeur de ce vaccin. La discussion a montré qu'il est nécessaire d'introduire une méthode standard pour la recherche de la valeur immunogène du vaccin par un même test standard.

Cl. sordellii entre dans plusieurs formules de vaccins polyvalents contre les infections clostridiales. Ceci est plus vrai aux U.S.A. qu'en Europe. En Yougoslavie, ce composant figure dans le vaccin polyvalent contre les infections clostridiales des bovins. *Cl. sordellii* se rencontre dans les vaccins bivalents *(Cl. novyi + Cl. sordellii)* et trivalent *(Cl. chauvoei + Cl. septicum + Cl. sordellii)* et polyvalent *(Cl. chauvoei + Cl. septicum + Cl. novyi + Cl. sordellii + Cl.*

perfringens C et D*)*. Pour le contrôle de l'efficacité, comportant la protection des souris contre l'infection avec *Cl. sordellii,* on recommande les spores. Les résultats des tests sur souris, obtenus avec plusieurs formules expérimentales sur la base de l'anatoxine (bactérine) concernant la relation entre la réponse en antitoxine alpha et la protection des cobayes et des bovins, ont démontré qu'ils provoquent une bonne immunité. D'après HAAS, 75-100 % des souris doivent être protégées. La méthode pour le titrage de l'antitoxine *Cl. sordellii* est décrite dans le Code Vétérinaire Britannique. La valeur de 0.2 USA protège l'animal vacciné contre l'infection dans les conditions naturelles (HAAS). Les recommendations définitives pour le titrage de ce vaccin se trouvent encore en cours d'étude aux U.S.A. et seront établies dans un proche avenir (6).

Le problème du titrage des vaccins contre la toxi-infection botulinique à usage vétérinaire a attiré l'attention car les méthodes pour le contrôle de la valeur immunogène qui sont formulées dans les différentes pharmacopées doit être unifié. Au cours du travail, la méthode décrite dans le Codex britannique pour le titrage de la valeur immunogène a été l'objet d'une discussion très fructueuse bien qu'il ait été signalé que, pour expliquer cette discordance, on peut chercher une réponse dans la complexité sérologique du type et de l'intratype. Il est nécessaire d'utiliser des sérums et LD correspondants. Chez les grands bovins, le vaccin contre l'infection avec le type D peut protéger les animaux vaccinés s'il contient 0.02 UA. Cette quantité d'antitoxine peut neutraliser 500 LD/100. Les recherches de l'efficacité du vaccin contre l'infection avec le type C ont été faites sur la souris blanche, le cobaye et le vison. Pour cette étude, ont été utilisées les méthodes qui sont en usage aux Etats-Unis, en Grande-Bretagne et en Suède. En outre, l'étude a porté sur l'aptitude du furet à répondre à la toxine d'épreuve. Toutes les espèces d'animaux de laboratoire peuvent être protégées contre des doses élevées de toxine. A la suite d'une seule injection de vaccin, le titre humoral d'antitoxine s'est révélé faible chez les animaux immunisés; par contre, soit après une seconde injection de vaccin, soit après l'injection de la dose d'épreuve de toxine, les titres ont considérablement monté. Chez le cobaye, les réponses en antitoxines de type C, et/ou de type D à une dose unique d'un vaccin bivalent ou monovalent contre *Cl. botulinum* augmentent entre la quatrième et la neuvième semaine. Pour le type C, une évolution analogue a été constatée sur les bovins. Les antigènes des types C et D interfèrent mutuellement avec les réponses en anatoxines chez le cobaye. Les contrôles

de stabilité des vaccins ont souligné le caractère non satisfaisant d'un mode de contrôle basé sur la réponse absolue. Ils n'ont pas révélé une diminution quelconque d'activité au cours de la conservation. L'attention est attirée sur la nécessité d'un mode de contrôle basé sur un type de réponse graduée dans lequel les vaccins testés sont comparés avec un vaccin de référence (7).

Le mode de préparation des vaccins contre les infections clostridiales est très difficile à unifier au point de vue de leur composition antigénique, du procédé technologique de préparation du vaccin, de la valeur immunogène de l'antigène, des adjuvants, etc. C'est la raison que nous avons aujourd'hui pour étudier ce sujet, les grandes variations des préparations. En tout cas, on demande à un bon vaccin que son utilisation puisse conférer une immunité solide. Cela est possible si le vaccin est préparé avec un bon antigène et s'il correspond à la situation épizootologique du terrain où on l'utilise.

Après l'apparition des vaccins polyvalents contre les infections clostridiales, préparés à base d'anaculture de bouillon formolé en même temps, on parle beaucoup des vaccins préparés selon le principe de l'anatoxine (toxoïde bactérine). Naturellement, la valeur immunogène et le contrôle de cette valeur sont ici d'un intérêt primordial. Un vaccin à composants multiples contre ces infections est actuellement mis au point, avec pour objectif d'en faire une préparation standard pour le contrôle des vaccins contenant de un à huit composants. Il s'agit d'une polyanatoxine formolée (contre les Entérotoxémies, Bradsot, Tétanos et Hépatite nécrosante) obtenue après ultracentrifugation, purification/concentration des toxines, puis formolisation et adsorption sur hydroxyde d'aluminium. Le contrôle a pour but la vérification immunogène des composants par titrage de l'antitoxine développée sur le mouton ou le lapin. Le standard proposé par GRAY contient également le toxoïde (anatoxine) de *Cl. œdematiens* type D et une anaculture de *Cl. chauvoei*. On espère développer par la suite l'utilisation de ces deux derniers composants dans d'autres systèmes de test. Le but de l'établissement de ce standard était de fournir un moyen de contrôler entre laboratoires les variations dues aux animaux.

La possibilité de réaliser un tel standard a été étudiée du point de vue de l'adjuvant et du dosage optimal. L'analyse de ces résultats d'essais effectués en collaboration et d'autres études, ont montré que le standard proposé donnait des résultats cohérents, qui confirment l'opinion qu'un tel standard est possible. La réponse immuni-

taire à un produit à tester peut être directement comparée à celle du standard en termes d'unités internationales d'antitoxine pour chaque composant. Un trait distinctif important de cette méthode est que le standard fonctionne comme témoin de référence pour le système de test. Des titrages du standard ont maintenant été effectués en nombre suffisant pour permettre les comparaisons avec les produits à tester. Avant l'utilisation d'un standard, il existait une incertitude lorsque l'autorité nationale de contrôle et un laboratoire producteur testaient le même produit; il est désormais possible d'obtenir une plus grande exactitude lors du contrôle de composants à résultats marginaux ou mauvais.

Un développement ultérieur concerne le calcul du quotient d'activité qui exprime le rapport entre le résultat du vaccin testé et le résultat du standard. L'emploi de cette méthode permet de tenir compte des variations dans la réponse du standard aux composants utilisés. L'utilisation des données accumulées dans cette étude a permis d'établir, pour chaque composant, des exigences comprises entre des limites maximale et minimale; on propose d'utiliser une méthode de comparaison basée sur le quotient d'activité pour remplacer le système actuel qui exige la production de taux minima absolus pour le jugement de la valeur immunogène.

En tout cas, la quantité d'antigène contenue dans le vaccin est garantie pour la solidité de l'immunité, mais nous ne pouvons pas dire que les vaccins préparés sous la forme d'anaculture formolée précipitée par l'alun ne protègent pas les animaux contre les maladies clostridiales dans les conditions naturelles de l'infection. J'ai suivi la littérature contemporaine à ce sujet mais je n'ai pas trouvé de données qui parlent contre l'utilisation de ces vaccins. Je ne désire pas traiter ici de la complexité de la préparation des vaccins à base d'anatoxine (toxoïde), qui demande du temps et plus de moyens matériels qui incombent en définitive aux éleveurs. En tout cas, pour nous, l'intérêt primordial est l'effet obtenu par la vaccination, c'est-à-dire la valeur de l'immunité.

Aujourd'hui, on recommande différents produits ayant le rôle d'adjuvant. Parmi eux, nous attirons l'attention sur les produits sous forme huileuse. Les vaccins en émulsion huileuse diffèrent considérablement des vaccins conventionnels précipités par l'alun en ce qui concerne à la fois la méthode d'administration et la réponse immunitaire. On peut se demander si les tests réglementaires existants permettent une évaluation pleinement significative de tels vaccins. C'est pourquoi on a tenté de déterminer dans quelle mesure les

tests d'antigénicité d'un vaccin en émulsion huileuse sur animaux de laboratoire reflètent l'activité de ce vaccin pour l'espèce visée, les ovins. Les résultats qui ont été obtenus lors de vaccinations avec ces deux vaccins ont montré que le vaccin sous forme huileuse donne des résultats meilleurs que les vaccins conventionnels précipités à l'alun.

S'agissant des produits biologiques et de leur utilisation dans la lutte contre les maladies causées par les clostridies, notre attention doit s'appliquer également à la question de la préparation et de l'utilisation des antisérums pour le diagnostic et la détermination des types des germes clostridiaux. Malheureusement, cette question en est souvent encore restée aux informations des laboratoires producteurs, et nous n'avons que des informations incomplètes dans ce domaine (antigène utilisé, méthode de préparation, valeur immunogène).

Cependant, bien que, par exemple, les résultats donnés par l'immunofluorescence avec le genre *Cl. perfringens* n'aient pas été satisfaisants, il ne faudrait pas méconnaître la valeur de cette technique pour le diagnostic d'autres clostridies : *Cl. septicum, Cl. chauvoei,* les représentants du genre *Cl. botilinum,* etc. (9).

Il est difficile, dans le cadre de cette courte présentation, d'apporter une information aussi détaillée qu'il eût été souhaitable; nous avons, dans ces conditions, été conduits à nous contenter, tout en soulignant l'importance des questions encore à étudier, d'appeler principalement l'attention sur les différences décrites dans les Codes officiels en usage.

Il est bien évident, comme nous l'avons déjà dit, que ces différences ne nous autorisent pas à établir des recommandations définitives sans une étude approfondie dans le cadre d'une coopération internationale.

En dehors de l'établissement des standards les plus importants, certains problèmes nous paraissent mériter aussi une étude particulière; par exemple, dans la question posée par la vaccinothérapie (anatoxithérapie), l'influence de l'antigène sur la production de l'immunité lors de l'utilisation simultanée des vaccins et du sérum hyperimmun et la durée de l'immunité observée chez les sujets ainsi traités.

En conclusion de ce Rapport, nous voudrions souligner l'importance des activités de l'O.I.E. dans le progrès des connaissances, grâce aux méthodes d'organisation qu'il met en œuvre pour nos ren-

contres, ainsi qu'à l'autorité dont il jouit qui lui permet, en mobilisant l'élite scientifique, de rechercher la solution des problèmes les plus compliqués et les plus délicats dans le domaine de la pathologie et de la prophylaxie des maladies épizootiques.

Le niveau scientifique très élevé de cette Conférence en témoigne hautement.

*
* *

BIBLIOGRAPHIE

1. DAVIDSON (I.). — An international survey of clostridial sera and vaccines. Development in biological standardisation. Joint OIE/IABS Symposium on Clostridial Products in Veterinary Medicine, **32**, S. Karger, Basel, 1976, 3-15.

2. JANSEN (B.C.). — The standardisation of *Cl. perfringens* antigens and antisera. Joint OIE/IABS Symposium on Clostridial Products in Veterinary Medicine, 35-45.

BOUSICAUX (A.). — Standardisation des techniques de contrôle des vaccins à *Clostridium perfringens*. Utilisation d'un vaccin de référence. Joint OIE/IABS Symposium on Clostridial Products in Veterinary Medicine, 45-63.

JANSEN (B.C.). — The prevention of Enterotoxaemia (Pulpy Kidney Disease) by vaccination. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1967, **67**, 1539-1567.

THOMSON (R.O.), BATTY (I.), THOMSON (A.), KERRY (J.), EPPS (H.B.G.) et FOSTER (W.H.). — The immunogenicity of a multicomponent clostridial oil emulsion vaccine in sheep. *Vet. Rec.*, 1969, **85**, 81-84.

3. MACHEAK (M.E.). — *Clostridium œdematiens* observations on potency assaying. Joint OIE/IABS Symposium on Clostridial Products in Veterinary Medicine, 103-107.

4. CARDELLA (M.A.) et KOLBE (D.R.). — Potency testing of *Clostridium septicum* bacterins in sheep and laboratory animals. Joint OIE/IABS Symposium on Clostridial Products in Veterinary Medecine, 113-115.

British Veterinary Codex, 1965, London, 453-454.

5. CLAUS (D.K.) et MACHEAK (M.E.). — Preparation of a *Cl. chauvoei* antigen and determination of protective immunity by plate agglutination test. *Amer. J. vet. Res.*, 1972, **33**, 1045-1052.

CLAUS (D.K.) et MACHEAK (M.E.). — Characteristics and immunizing proprieties of culture filtrate of *Cl. chauvoei*. *Amer. J. vet. Res.*, 1972, **33**, 1031-1038.

MACHEAK (M.E.) et CLAUS (M.S.). — Response of hamsters and guinea pigs to antigens of *Cl. chauvoei* containing bacterins; relationship of agglutination titres and potency test in cattle. *Amer. J. vet. Res.*, 1972, **33**, 1053-1058.

SEIRE (F.) et ASTARLOA (F.). — A potency test in guinea pigs for the evolution of *Cl. chauvoei* bacterins. *Amer. J. vet. Res.*, 1964, **25**, 1785-1787.

British Veterinary Codex, Supplement 1970, Monography *Clostridium chauvoei* vaccine, 1965, London, 115-116.

United States Department of Agriculture, Standard Requirement B23 (*Clostridium chauvoei* SAM 200).

CHANDLER (H.M.). — Some observations on the quality control testing of *Cl. chauvoei* vaccines. Joint OIE/IABS Symposium on Clostridial Products in Veterinary Medicine, 135-137.

KNIGHT (P.A.). — Some problems concerning the assay of *Clostridium chauvoei* vaccine in laboratory animals. Joint OIE/IABS Symposium on Clostridial Products in Veterinary Medicine, 143-151.

JOUBERT (L.) et VALETTE (L.). — Les échecs de la vaccination anti-symptomatique et les méthodes de contrôle des vaccins. Joint OIE/IABS Symposium on Clostridial Products in Veterinary Medicine, 151-157.

6. HAAS (H.F.). — Potency of *Cl. sordellii* bacterin-toxoids by means of a mouse protection test. Joint OIE/IABS Symposium on Clostridial Products in Veterinary Medicine, 165-167.

7. PRANTER. — Results of potency tests of a vaccine against *Cl. botulinum*. Joint OIE/IABS Symposium on Clostridial Products in Veterinary Medicine, 173-175.

MATHEWS (A.G.). — Antitoxin responses to *Clostridium botulinum* vaccines types C and D in guinea pigs. Joint OIE/IABS

Symposium on Clostridial Products in Veterinary Medicine, 185-193.

KRILOV (L.V.). — Méthode d'appréciation quantitative de l'activité du vaccin contre le botulisme du vison. Joint OIE/IABS Symposium on Clostridial Products in Veterinary Medicine, 203-211.

DINTER (Z.). — Zur aktiven Immunität gegen das Botulismus-Toxin C. *Nord. Vet. Med.*, 1955, **7**, 1056-1062.

TAMEMEMAGI (L.) and GRANT (K. McD). — Vaccination in the control of bovine botulism in Queensland. *Aust. vet. J.*, 1967, **43**, 368-373.

British Veterinary Codex, 1965, London (Supplement 1970).

8. GRAY (A.K.W.). — The use of a multicomponent standard for clostridial vaccines in mice. Joint OIE/IABS Symposium on Clostridial Products in Veterinary Medicine, 243-245.

KAGAN (F.I.), OURGOIEV (K.R.) and KIRILOV (L.V.). — Travaux pour la mise au point et l'essai d'une anatoxine polyvalente contre les Clostridioses du mouton. Joint OIE/IABS Symposium on Clostridial Products in Veterinary Medicine, 251-259.

THOMSON (R.O.) and KNIGHT (P.A.). — The relative potency of an oil adjuvant multicomponent vaccine in laboratory animals and sheep. Joint OIE/IABS Symposium on Clostridial Products in Veterinary Medicine, 265-271.

9. KATITCH (R.V.). — Les Maladies des animaux domestiques causées par les Microbes anaérobies. Paris, Ed. Vigot, 1965 109-113.

10. KATITCH (R.V.). — Le Tétanos. Paris, Ed. Vigot, 1967, 141-186.

Bull. Off. int. Epiz., 1978, **89** (5-6), 271-278.

Le Codex européen et l'examen des sérums et vaccins utilisés en médecine vétérinaire (*)

par

W. SCHNEIDER (**)

Etant donné que des rapports ont été effectués avant la Conférence de la Commission Européenne de l'Office International des Epizooties, sur le Codex européen (PH. EUR)(***) et sur les progrès atteints dans le domaine de l'examen des sérums et vaccins utilisés en médecine vétérinaire, il semble tout à fait opportun de présenter en premier lieu le sens et l'objet de cette PH. EUR, ainsi que la manière dont elle a été élaborée. Une partie de vos adhérents y verront sans doute l'abrégé de faits connus, mais l'autre partie, qui n'appartient pas aux Etats adhérents à la PH. EUR, y verra, je l'espère, une information utile.

En principe, le Codex international de l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.) est vraiment la première tentative d'appréciation des médicaments selon des normes unifiées à l'échelle mondiale. En continuité avec le Codex qui ne contient que quelques monographies pour les immunsérums, le Comité d'Experts pour la Standardisation Biologique de l'O.M.S. élabore et adopte des exigences pour les substances biologiques, notamment pour les sérums et les vaccins. La plupart de ces exigences concernent les sérums et vaccins à usage humain. Pour les préparations vétérinaires correspondantes, on ne s'occupe que des exigences se rapportant au vaccin « Anthrax Spore »; les exigences relatives aux tuberculines concernent des préparations tant pour l'usage humain que vétérinaire. Abstraction faite des observations jusqu'ici effectuées en très faible nombre sur

---

(*) Traduction du rapport original intitulé : « Das Europäische Arzneibuch und die Prüfung veterinärmedizinischer Sera und Impfstoffe ».

(**) Paul-Ehrlich-Institut, Francfort/Main.

(***) Pharmacopée Européenne.

les sérums et vaccins à usage vétérinaire, le Codex international et les exigences du Comité d'Experts pour la Standardisation Biologique de l'O.M.S. ont un inconvénient : ils présentent des recommandations très utiles et importantes pour la fabrication et le contrôle de ces produits, mais qui ne sont pas légalement obligatoires. Par contre, la PH. EUR donne des normes médicamenteuses unifiées dans les Etats sous Convention, en ce qui concerne les médicaments d'intérêt général. Elle s'appuie sur un accord international avec engagement juridique. Dans le cadre du Conseil de l'Europe, la Belgique, la République Fédérale d'Allemagne, la France, la Grande-Bretagne, l'Italie, le Luxembourg, les Pays-Bas et la Suisse sont parvenus, le 22 juillet 1964, à un Accord sans limitation de temps pour l'élaboration d'un Codex européen. Par cet Accord, ils s'engagent à élaborer un Codex qui devrait faire autorité dans tous les Etats intéressés, et à prendre les mesures nécessaires afin que les monographies qui y sont contenues présentent des normes officielles applicables à l'intérieur des Etats de la Convention. Cela signifie que les normes de la PH. EUR doivent être modifiées en fonction du droit des nations considérées.

Eu égard aux obligations importantes qui incombent aux partenaires de cet Accord, une résolution du Comité Ministériel du Conseil de l'Europe a été jugée insuffisante. En tant que convention de droit international, l'Accord a exigé la ratification ou l'adoption par les gouvernements signataires. L'Accord est entré en vigueur trois mois après le dépôt des huit pièces de ratification et d'adoption, le 8 mai 1974. Depuis lors, l'adhésion d'autres Etats-Membres est possible. Jusqu'à présent, la Suède, le Danemark, l'Islande, la Norvège et Chypre ont adhéré à l'Accord; la Finlande, l'Irlande, l'Autriche, le Portugal et la Communauté Européenne participent, en tant qu'observateurs, aux préparatifs de la Commission Européenne du Codex, à Bruxelles. Passé un délai de six ans à compter de l'entrée en vigueur, donc après le 8 mai 1980, des pays européens non membres du Conseil de l'Europe pourront également adhérer, sur invitation, à l'Accord. L'avenir dira si la PH. EUR représentera un jour la normalisation des médicaments pour toute l'Europe, ou seulement une partie. La PH. EUR est élaborée par un Comité de Santé qui travaille dans le cadre du Conseil de l'Europe, et par la Commission Européenne du Codex créée à cette fin par le Comité de Santé. Le Comité de Santé contrôle le fonctionnement de la Commission du Codex et fixe les délais d'entrée en vigueur des monographies. La Commission du Codex, qui consiste en des délégations nationales de

tous les Etats-Membres, statue sur les questions matérielles et de procédure. La Commission détermine les principes généraux appliqués à l'élaboration de la PH. EUR, elle décide des méthodes de recherche appropriées selon les cas et de l'élaboration des monographies admissibles dans la PH. EUR, sur l'adoption desquelles elle se prononce définitivement après mise au point. Pour toutes les affaires traitées, les prises de résolutions par la Commission nécessitent l'unanimité.

La Commission charge des groupes d'experts de l'élaboration des monographies. Les ébauches ainsi acquises sont transmises, pour avis, aux délégations nationales représentées à la Commission. Lesdits avis sont alors étudiés dans le groupe d'experts qui propose ensuite à la Commission la monographie achevée. Si l'on est parvenu à un compromis acceptable, la Commission peut décréter l'adoption définitive de la monographie; mais si le groupe d'experts n'a pas assez pris en considération et harmonisé les avis nationaux souvent divers, la Commission renvoie alors la monographie au groupe d'experts pour remaniement.

Les membres du groupe d'experts sont nommés par les autorités de leur nation; ils travaillent au sein du groupe d'experts en tant qu'experts non assujettis à des directives. Comme, en ce qui concerne précisément les sérums et vaccins, aucun expert ne peut être un spécialiste de chaque domaine, il a continuellement besoin de l'avis d'autres experts. En outre, l'expert doit rester en relation avec les autorités sanitaires et vétérinaires compétentes de son pays, d'une part afin de leur expliquer si nécessaire les ébauches de monographies et de les conseiller le cas échéant dans l'élaboration des prises de position nationales, et d'autre part afin de pouvoir justifier les prises de position de son pays au sein du groupe d'experts. En cas d'opinions très divergentes, seule l'activité du médiateur peut influencer de manière importante l'adoption définitive d'une monographie. Comme la Commission ne peut prendre de décisions qu'à l'unanimité, on peut ainsi préparer d'importants compromis.

Le travail sur la PH. EUR a commencé juste après la signature de l'Accord, dès 1964, et donc pas seulement après son entrée en vigueur en 1974. On voulait ainsi éviter des retards et l'on s'est donc entendu pour commencer le travail aussitôt. Les volumes I et II ont déjà pu être publiés en 1970 et 1971, un supplément s'y étant ajouté en 1972. Le volume III existe également avec un supplément. Le dernier volume contient les premières monographies sur les sérums

et vaccins employés en médecine vétérinaire et des méthodes générales de contrôle de ces préparations. La parution relativement tardive de ces monographies s'explique par le fait que le groupe d'experts chargé de ce travail, 15 V, s'est seulement constitué en 1970, c'est-à-dire un peu plus tard que la plupart des autres groupes.

Quelques méthodes générales de recherches, qui étaient déjà contenues dans la PH. EUR, ont dû être modifiées et nouvellement développées, lors de l'élaboration de deux monographies générales et des sept monographies spécialisées parues jusqu'ici. Ce fut le cas pour l'examen de toxicité anormale et de stérilité. Comme les vaccins à usage vétérinaire contiennent en partie des adjuvants provoquant des réactions plus violentes qu'en médecine humaine, la dose injectée a été réduite à peu près de moitié et appliquée non plus par la voie intrapéritonéale mais sous-cutanée, lors du contrôle de toxicité anormale. Lors de l'examen de stérilité, on est parvenu à une réduction importante du nombre des doses trop éprouvantes et le temps d'incubation a été allongé de 7 à au moins 14 jours. On peut supposer que l'allongement du temps d'incubation sera également prescrit, plus tard, pour d'autres préparations biologiques. La question des échantillons de toutes sortes à tester n'a pas encore été résolue. On ne peut pas tester un échantillon de 10 % du contenu d'un doseur multiple contenant par exemple 0,5 l de vaccin anti-aphteux, pour l'exclusion des bactéries ou des champignons. En outre, on a dû, par erreur, rejeter comme étant non stériles, des séries entières de vaccin, à cause du taux d'erreur technique lié au contrôle de stérilité. Une technique a été nouvellement mise au point pour l'exclusion des mycoplasmes pathogènes pour les volailles, concernant pour l'instant uniquement les mycoplasmes; on peut supposer que ce test deviendra plus tard un test général des mycoplasmes.

Les monographies générales concernant les immunsérums et vaccins à usage vétérinaire pour lesquels il n'existe pas encore de monographie spéciale ne sont pas nécessairement applicables aux préparations. Cette restriction formelle sera à peine effectuée dans la pratique, au contraire, on appliquera de la même façon les normes générales établies avec ces monographies à des préparations comparables. Dans la pratique, on ne peut fixer aucune obligation différente, notamment en ce qui concerne la pureté des sérums et vaccins.

Les deux monographies s'appuient étroitement sur celles qui leur correspondent pour les sérums et vaccins à usage humain : c'est-à-dire que, pour la fabrication et le contrôle des sérums et vaccins à

usage vétérinaire, il faut par principe procéder avec la même exactitude qu'avec les produits utilisés en médecine humaine. Les différences concernent essentiellement la haute teneur en phénol dans les préparations effectuées dans les doseurs multiples et les résidus d'antibiotiques autorisés à l'issue du processus de fabrication, lorsque les vaccins ne sont pas administrés par la voie parentérale ou comme aérosols. Conformément à l'état actuel des connaissances, on prescrit le système du virus de semence et le nombre de passages pour multiplication est limité. On n'indique que le phénol comme conservateur. Il manque encore une monographie générale sur les conservateurs et l'on prépare une monographie correspondante sur les adjuvants.

Après les monographies générales sur les sérums et vaccins, les monographies sur les vaccins aviaires contre la Bronchite Infectieuse et la Maladie de Newcastle sont celles dont l'élaboration a été achevée il y a le plus longtemps. Aucune caractéristique particulière n'est indiquée pour les semences du vaccin contre la Bronchite Infectieuse; pour celles du vaccin contre la Maladie de Newcastle, il y a l'index neuropathique qui, avec 0,25, représente un compromis entre les valeurs autrefois contenues dans les prescriptions nationales. Lorsque l'examen d'efficacité et le test d'état indemne du virus de la Leucose et du virus de Marek sont effectués sur les semences, il est alors inutile d'effectuer ces tests, comme tests de routine, pour chaque lot de vaccin. On procède généralement de cette manière pour le contrôle d'efficacité de virus-vaccins vivants. Cette réglementation a été choisie pour les tests d'état indemne vis-à-vis du virus de la Leucose et du virus de Marek, car ils sont très coûteux et les substances utilisées pour leur réalisation sont très rares.

Les examens d'innocuité sont décrits en détail, dans le cadre des recherches destinées à l'exclusion des virus étrangers. Cela rend les vaccins comparables dans les Etats-Membres de la PH. EUR, mais il y a cependant un inconvénient : les prescriptions d'analyses de ces produits biologiques peuvent être facilement dépassées par le progrès scientifique. Il se pourrait que cela soit déjà le cas pour les tests sur les virus étrangers pour lesquels les prescriptions nationales sont continuellement mises à jour. Il sera difficile d'adopter de nouvelles monographies pour les vaccins aviaires sans prendre en considération ces nouvelles connaissances; cela engendrerait en tout cas des difficultés si des monographies avec exigences différentes étaient contenues dans la même édition de la PH. EUR, pour des vaccins du même type. Bien que cette question ne soit pas encore résolue, les

monographies pour les autres vaccins aviaires sont en préparation. Un complément d'exigences SPF déjà continuellement appliquées sur le plan national, et l'élaboration d'un test d'exclusion du virus de la Leucose, ne devraient pas poser de difficultés.

On trouve également des exigences encore relativement faibles en ce qui concerne l'atténuation du taux de la souche de virus utilisée pour la fabrication du vaccin, dans les autres monographies, par exemple pour les virus-vaccins vivants contre l'Hépatite contagieuse du chien et contre la Maladie de Carré. On demande simplement que le vaccin contre l'Hépatite ne puisse provoquer aucun effet pathogène, après injection intraveineuse ; le vaccin contre la Maladie de Carré ne doit, en particulier, présenter aucune propriété neuropathogène. Ces exigences doivent toutefois être complétées par les prescriptions des monographies générales concernant les vaccins; selon ces prescriptions, cinq passages sont autorisés pour la multiplication du virus, et tous les tests nécessaires doivent être effectués sur ce virus qui pourront démontrer qu'elles conviennent à la fabrication du vaccin. Pour les deux vaccins, l'efficacité immunogène du virus est testée au moyen d'une infection d'épreuve sur un animal effectivement vacciné; ensuite, la détermination du titre viral suffit pour les lots isolés de vaccin.

Le vaccin contre la Leptospirose est le premier vaccin inactivé pour lequel une monographie a été éditée. Mis à part les tests généraux et spéciaux d'innocuité et d'efficacité, elle contient deux détails qui doivent être mentionnés. Conformément à l'exigence générale de pureté maximale, on ne doit plus pouvoir déceler, dans le vaccin, les additifs sériques ajoutés en cours de fabrication. A côté de l'examen général de stérilité, il faut vérifier l'inactivation complète des leptospires par un examen complémentaire. L'examen d'efficacité est effectué sur des petits cobayes, avec une dose réduite de vaccin.

Le vaccin vivant contre le Charbon bactéridien est le seul vaccin pour lequel il existe également des recommandations de l'O.M.S. Ces recommandations sont un complément très utile de la monographie de la PH. EUR, particulièrement en ce qu'elles exigent la fabrication du vaccin par le système des virus de semence et limitent à trois le nombre de passages du virus de semence à effectuer, pour sa multiplication, lors de la fabrication du vaccin. La PH. EUR accorde une plus grande place à la définition des souches de vaccin que celle exigée par l'O.M.S. Elle s'appuie étroitement sur les recommandations de l'O.M.S., notamment en ce qui concerne le contrôle d'efficacité.

La monographie sur le vaccin contre le Charbon bactéridien rend justement intéressant, par ses variations et sa façon de suivre l'exemple des recommandations de l'O.M.S., de tenter un aperçu général des monographies de vaccins dans la PH. EUR et de comparer également des préparations de médecine humaine et vétérinaire. Ce qui frappe alors, c'est que les monographies de vaccins humains très compliquées, à l'échelle des expériences et de la technique, tels que les vaccins contre la Rougeole et la Poliomyélite, ne sont pas plus volumineuses que celles de préparations vétérinaires relativement simples. Les monographies pour les vaccins vivants complexes à usage humain ne contiennent que des indications générales sur le choix de la souche appropriée, le contrôle du degré d'atténuation du virus-vaccin et l'exclusion des virus étrangers. Ainsi elles abandonnent, en effet, tous les points essentiels pour une appréciation homogène des vaccins par les autorités nationales. Les monographies de la PH. EUR ne peuvent être lues et interprétées de façon unitaire que sur la base des exigences de l'O.M.S., non obligatoires, mais observées par toutes les institutions de contrôle qui s'occupent de ces vaccins.

A l'exception d'un cas, il n'existe aucune exigence de l'O.M.S. à côté des monographies de vaccins employées en médecine vétérinaire; elles n'ont donc aucun fondement mais doivent, au contraire, pénétrer elles-mêmes dans les détails. Il s'ensuit que les monographies de vaccins vivants pour les volailles, comparativement simples malgré leur problématique, sont environ deux fois plus volumineuses que celles sur les vaccins contre la Rougeole ou la Poliomyélite et que, en dépit de cela, même en médecine vétérinaire, les exigences importantes ne sont que généralement maintenues entre temps. Mais c'est justement pourquoi les monographies de sérums et vaccins à usage vétérinaire de la PH. EUR sont de la plus haute importance. Elles représentent la première tentative d'inventaire et d'unification pour le contrôle des préparations qui aident à la sécurité de l'alimentation humaine et à la protection des partenaires de l'homme et par là-même à la protection de l'homme lui-même et ceci à une échelle internationale relativement vaste. Cette première tentative, pour autant qu'elle continue à exister, est encore incomplète et nécessite des améliorations sur certains points. A côté de l'inventaire et du progrès scientifique, la poursuite et le développement ultérieur de ces monographies dans l'avenir facilitera la possibilité d'un compromis entre toutes les parties intéressées.

Ce travail a déjà atteint une ampleur appréciable, grâce à une série de nouvelles monographies; les ébauches concernant les vaccins

contre l'Encéphalomyélite Aviaire, la Peste Porcine et la Fièvre Aphteuse ont déjà été soumises à la Commission du Codex et en sont au stade de la discussion et du compromis. En ce qui concerne le vaccin contre la Peste Porcine, on peut s'attendre, pour la première fois, à des résultats précis portant sur le contrôle d'une atténuation suffisante du virus-vaccin. Pour le vaccin anti-aphteux, l'innocuité et l'efficacité posent de gros problèmes. Pour le vaccin contre la Maladie de Marek, on en est déjà aux prises de position nationales; l'ébauche du vaccin contre le Rouget du porc va parvenir aux délégations nationales pour prise de position. Diverses autres monographies, de la Brucellose à la Rage, sont en préparation, d'autres figurent seulement au programme. A l'examen de certaines monographies, des problèmes paraissant résolus depuis longtemps soulèvent de nouvelles questions, par exemple, la sensibilisation lors du contrôle d'efficacité des tuberculines; pour les autres préparations, il sera nécessaire de mettre au point des préparations unifiées pour le contrôle d'efficacité.

Les problèmes qui doivent encore être résolus sont nombreux, ils sont également de la plus haute importance. Certaines questions ne pourront être résolues qu'en collaboration avec d'autres Organisations. L'Office International des Epizooties a participé à la consultation sur la Fièvre Aphteuse. Si l'on parvient à résoudre le problème posé, pour procurer des normes unifiées pour l'examen des sérums et vaccins à usage vétérinaire, cela rendra finalement service aux centaines de millions d'hommes dont les pays adhèrent à la PH. EUR.

Bull. Off. int. Epiz., 1978, **89** (5-6), 279-293.

Acceptation, approbation et standardisation des produits biologiques à usage vétérinaire dans la République Socialiste de Roumanie (sérums, vaccins, antibiotiques, antigènes et sérums pour le diagnostic) (*)

par

C. CONSTANTINESCU (**), Gh. FAUR (***), S. TIBREA (**), C. MOLDOVEANU (***), D. NEDELCIU (**), Gr. CIORTEA (**), St. NEMTEANU (**) et F. DAN (***)

I. ACCEPTATION

Les démarches suivantes sont nécessaires pour l'acceptation des produits biologiques d'usage courant :

1. Recherches de laboratoire sur la technologie de la préparation et du contrôle et comportant des études sur : souches bactériennes ou virales, milieux de culture, méthode d'inactivation, adjuvants, influence de la lyophilisation ou autres facteurs de conditionnement, période de validité, contrôle, méthodologie des produits biologiques.

2. Expérimentation sur le terrain (exploitations ou autres unités zootechniques) où sont étudiées l'innocuité par rapport aux espèces réceptives, la dose, les réactions post-vaccinales, la durée de l'immunité.

(*) Traduction du rapport original intitulé : « Admittance, approval and standardization of the veterinary biological products in the Socialist Republic of Romania (sera, vaccines, antibiotics products, antigens and diagnostic sera) ».

(**) Institut de Recherche Vétérinaire et des Produits Biologiques « Pasteur ».

(***) Laboratoire d'Etat pour le Contrôle des Produits Biologiques et des Médicaments à usage vétérinaire.

II. APPROBATION

Les résultats des recherches et de l'expérience pilote sur le terrain sont analysés par la Commission Sanitaire-Vétérinaire pour les Produits Biologiques et les Médicaments, qui fait partie de la Direction Sanitaire-Vétérinaire du Ministère de l'Agriculture et de l'Industrie Alimentaire.

1.1. La Commission Sanitaire-Vétérinaire se compose de spécialistes de la Direction Sanitaire-Vétérinaire, des Instituts ou usines de fabrication; du Laboratoire de Contrôle des Produits Biologiques et des Médicaments à usage vétérinaire; des Facultés de Médecine Vétérinaire; du Laboratoire Central de Diagnostic Vétérinaire et d'autres institutions.

2. Les recommandations de la Commission Sanitaire-Vétérinaire sont prises en considération pour l'établissement des documents suivants qui servent de base pour la préparation, le contrôle et l'emploi du produit biologique.

2.1. Conditions requises pour la préparation et le contrôle du produit biologique.

2.2. Conditions requises pour la conservation et le contrôle des souches utilisées.

2.3. Instructions pour l'usage courant.

3. La Direction Sanitaire-Vétérinaire donne connaissance de ces documents qui sont finalement approuvés par le Ministère de l'Agriculture et de l'Industrie Alimentaire.

III. CONTROLE

Des détails sur le contrôle des produits biologiques et des antibiotiques à usage vétérinaire ne seront donnés que pour les plus importants d'entre eux utilisés dans notre pays, pour lesquels notre expérience est la plus grande. Les limites de ce rapport nous obligent à une brève présentation.

La stérilité des produits biologiques, dépendant de leur caractère spécifique, est contrôlée conformément à la Pharmacopée Roumaine, IX^{e} Edition 1976, en utilisant le Milieu 1 et le Milieu 2.

1. *Vaccins antibactériens.*

1.1. *Vaccins antibactériens inactivés.*

1.1.1. *Vaccin contre le Charbon symptomatique.*

Définition. Culture de souches appropriées de *Cl. chauveoi* en milieu liquide, inactivée et additionnée d'hydroxyde d'aluminium.

Innocuité. Est contrôlée sur cobayes qui doivent résister plus de 10 jours sans présenter aucun symptôme de maladie spécifique.

Efficacité. 5 cobayes de 350-400 g sont inoculés par voie sous-cutanée avec 1 ml de vaccin et sont soumis 21 jours plus tard à une inoculation d'épreuve avec une dose mortelle d'une culture virulente, en même temps que 2 animaux témoins non vaccinés. 60 % des cobayes vaccinés doivent résister après 6 jours d'observation et les animaux témoins devraient succomber dans les 24-72 heures en présentant des symptômes spécifiques du Charbon symptomatique.

1.1.2. *Vaccin polyvalent contre les Entérotoxémies.*

Définition. Mélange de cultures de *Cl. welchii,* types A, B, C, D et de *Cl. œdematiens* en milieu liquide, inactivées et additionnées d'hydroxyde d'aluminium.

Innocuité. Est contrôlée sur cobayes et lapins; aucun cas mortel ou symptôme de toxémie spécifique ne doivent apparaître pendant les 10 jours d'observation.

Efficacité. Des groupes comptant plus de 6 lapins sont vaccinés par voie sous-cutanée avec 5 ml de vaccin, puis avec la même dose, 14 jours plus tard. Au bout de 21 jours, les lapins sont saignés, les sérums sont mis en lot et le titrage est effectué selon la méthode internationale (décrite dans le Codex Vétérinaire Britannique). Les limites minimum d'antitoxine pour l'agrément du vaccin sont : 6, 4 U.I./ml d'antitoxine beta, 0,8 U.I./ml d'antitoxine epsilon et 0,8 U.I./ml d'antitoxine *œdematiens.*

1.1.3. *Vaccin contre la Leptospirose.*

Définition. Cultures de *L. pomona* et de *L. tarassovi* inactivées par la chaleur et le chinosol et additionnées d'hydroxyde d'aluminium comme adjuvant.

Innocuité. On utilise des cobayes et des lapins qui sont observés pendant 10 jours; aucune réaction anormale ne doit se développer.

Efficacité. Au moins 8 lapins et 4 brebis sont vaccinés à deux reprises par voie sous-cutanée à intervalle de 10 jours avec respecti-

vement 2 ml et 3 ml de vaccin. Au bout de 14-21 jours, les animaux sont saignés et les sérums mis en lot sont titrés par la réaction de micro-agglutination-lyse. Le titre minimum doit être de 1 : 200 contre chacun des composants du vaccin.

1.1.4. *Anatoxine tétanique.*

Définition. Filtrat de culture de *Cl. tetani,* inactivé par le formaldéhyde et la chaleur, et additionné d'hydroxyde d'aluminium comme adjuvant.

Innocuité. Emploi de cobayes et de souris qui sont observés pendant 10 jours; aucun cas mortel ou symptôme de toxémie spécifique ne doit apparaître chez aucun des animaux.

Efficacité. Deux groupes de 6 cobayes chacun, pesant 350-400 g sont vaccinés respectivement avec 2 ml et 5 ml d'anatoxine tétanique. 25-30 jours plus tard, les animaux sont soumis à une inoculation d'épreuve avec 100 et 200 MLB de toxine spécifique.

1.2. *Vaccins antibactériens vivants.*

1.2.1. *Vaccin contre* Bacillus anthracis.

Définition. Suspension dans de l'eau distillée-glycérinée de spores vivantes d'une souche avirulente non encapsulée : 1190 R-Stamatin, avec addition de saponine et de gélose.

Pureté. Les milieux de culture habituels doivent rester purs et les cultures avec du sang défibriné ne doivent pas développer de bacilles encapsulés.

Innocuité. Emploi de cobayes et de lapins. Pendant une période de 4-7 jours, ils peuvent présenter des œdèmes au point d'inoculation, sans septicémie ni présence de bacilles encapsulés dans les frottis des œdèmes.

Efficacité. Épreuve sur cobayes : 5 groupes, composés chacun de 10 cobayes pesant 400-500 g, sont inoculés avec 0,5 ml de vaccin non dilué et dilué au 1/5, 1/25, 1/125 et 1/625 dans de la glycérine-saponine. Ces animaux, ainsi que 5 cobayes témoins non vaccinés, sont soumis à une inoculation d'épreuve, 14 jours plus tard, avec 1 000 LD_{50} d'une suspension de spores, souche Tzenkovski II. A l'expiration d'une période d'observation de 10 jours, les animaux témoins doivent mourir de Fièvre charbonneuse et les animaux vaccinés doivent résister dans une proportion d'au moins 80 % et 50 % respectivement jusqu'à la dilution 1/25 et 1/125.

Épreuve sur brebis : 4 brebis sont inoculées avec 0,2 ml de vaccin et 4 autres brebis avec 0,2 ml d'une dilution du vaccin au 1/5. 10-14 jours plus tard, les brebis vaccinées ainsi que 2 autres non vaccinées sont soumises à une inoculation d'épreuve avec 1 000 MLD/lapins d'une souche virulente de *B. anthracis.*

Le vaccin doit contenir au moins 40 millions de spores/ml.

1.2.2. *Vaccin contre le Rouget du Porc.*

Définition. Une culture dans un milieu approprié (bouillon à la gélose) d'une souche atténuée — VR_2 — d'*Erysipelothrix rhusiopathiae.*

Efficacité. Trois groupes, de 5 bovins chacun, âgés de 18 à 30 mois, sont inoculés avec une dose vaccinale et, respectivement, avec des dilutions de vaccin selon une raison de 3 ou 4 dans un volume égal à la dose. L'inoculation d'épreuve a lieu 21 jours plus tard par inoculation intradermolinguale de 10.000 DI_{50} pour bovins d'un virus homologue. Pendant une période d'observation de 7 jours, seule la généralisation des lésions est prise en considération. Une dose vaccinale ne doit pas contenir moins de 8 DP_{50}, déterminées par la méthode Probit.

2.2. *Vaccins anti-viraux vivants*

2.2.1. *Vaccin lapinisé, anti-suipestique, souche « C » (lyophilisé)*

Définition. Suspension tissulaire de lapins inoculés avec le virus atténué de la Peste Porcine, souche « C ».

Innocuité. Contrôlée en utilisant 2 porcs sains âgés de 60-70 jours, inoculés par voie intramusculaire avec 10 doses vaccinales et 3 souris inoculées par voie sous-cutanée avec 0,5 ml d'une dilution au 1/20 du produit virulent.

Efficacité. Des porcs en bonne santé sont utilisés pour déterminer la DP_{100}. 14 jours plus tard, les porcs vaccinés ainsi que les non vaccinés sont soumis à une inoculation d'épreuve avec au moins 10^6 DL_{100} de virus virulent de la Peste Porcine. Une dose vaccinale ne doit pas contenir moins de 100 DP_{100}.

2.2.2. *Vaccin « Bucuresti » contre la Maladie d'Aujeszky chez le porc (lyophilisé).*

Définition. Souche « Bucuresti » du virus de la Maladie d'Aujeszky cultivé en culture cellulaire de fibroblastes d'embryon de poulet, reconstituée immédiatement avant emploi par dilution dans l'hydroxyde d'aluminium.

La souche « Bucuresti » atténuée fut obtenue à partir d'un virus virulent de la Maladie d'Aujeszky qui fut d'abord adapté et cultivé sur embryons de poulet puis passé et cloné en culture cellulaire de fibroblastes d'embryon de poulet.

Innocuité. Deux porcs réceptifs à la Maladie d'Aujeszky, âgés de 30-45 jours, sont inoculés par voie intra-cérébrale avec 1 000 CPD_{50} à raison d'une dose de 0,2 ml. Deux autres porcs du même âge sont inoculés par voie sous-cutanée avec 2 doses vaccinales.

Concentration du virus (ECP_{50}). Est mesurée en culture cellulaire de fibroblastes d'embryon de poulet. Le titre du virus (ECP_{50}) doit être égal ou supérieur à $10^{-5,5}$/ml.

Efficacité. Cinq porcs réceptifs à la Maladie d'Aujeszky, âgés de 30 jours sont inoculés à deux reprises avec la dose vaccinale à un intervalle de 21 jours et, 14 jours plus tard, sont soumis à une inoculation d'épreuve par voie intranasale (1 ml) et par badigeonnage des amygdales avec du virus virulent de culture de cellules qui doit avoir un ECP_{50} égal ou supérieur à 10^{-6}. 4 au moins des cinq porcs vaccinés doivent résister et 2 des 3 porcs témoins doivent succomber à la Maladie d'Aujeszky.

2.2.3. *Vaccin souche « La Sota » contre la Maladie de Newcastle (lyophilisé et liquide).*

Définition. Liquide allantoïdien d'œufs de poules embryonnés, inoculé avec la souche La Sota du virus de la Maladie de Newcastle. Il est fabriqué sous forme lyophilisée pour administration oculaire, nasale et intramusculaire et sous forme liquide pour application massive (aérosols, eau de boisson).

Innocuité. 5 poussins réceptifs âgés de 10-30 jours sont inoculés par voie intra-musculaire avec 0,5 ml de vaccin non dilué.

Concentration du virus (EID_{50}). Des œufs embryonnés âgés de 10-11 jours et des échantillons de vaccin gardé à 4°C et 37°C pendant deux jours pour le vaccin liquide et pendant 7 jours pour le vaccin lyophilisé sont utilisés.

La EID_{50}/ml doit être de :
— Vaccin liquide à 4°C $\Rightarrow \geqslant 10^{-8,5}$.
— Vaccin liquide à 37°C (2 jours) $\Rightarrow \geqslant 10^{-6,5}$.
— Vaccin lyophilisé à 4°C $= \geqslant 10^{-7,5}$.
— Vaccin lyophilisé à 37°C (7 jours) $= 10^{-6}$.

Efficacité. 20 poussins réceptifs âgés de 21-30 jours sont vaccinés par instillation oculaire avec une dilution du vaccin au 1/10.

14 jours plus tard, les poussins vaccinés et témoins sont soumis à une inoculation d'épreuve avec au moins 200 000 ELD de virus virulent. 18 au moins des 20 poussins vaccinés doivent résister et tous les poussins témoins doivent succomber en présentant des symptômes et des lésions de Maladie de Newcastle.

2.2.4. *Vaccin souche « H » contre la Maladie de Newcastle (lyophilisé)*

Définition. Liquide allantoïdien d'œufs de poules embryonnés inoculés avec la souche « H » du virus de la Maladie de Newcastle.

Innocuité. 5 poussins réceptifs âgés de 60-90 jours sont inoculés par voie intramusculaire avec 1 ml de vaccin dilué au 1/100.

Concentration du virus. Des échantillons du vaccin, gardés à 4°C et à 37°C pendant 7 jours, sont inoculés à des œufs embryonnés âgés de 10-11 jours.

La EID_{50}/ml devrait être :
— Vaccin à 4°C = $\geqslant 10^{-6,5}$.
— Vaccin à 37°C (7 jours) = $\geqslant 10^{-5}$.

Efficacité. 20 poussins âgés de 60-90 jours sont inoculés par voie intramusculaire avec 0,5 ml de vaccin dilué au 1/500. Les poussins vaccinés et les témoins sont soumis à une inoculation d'épreuve 14 jours plus tard avec au moins 200.000 ELD_{50} d'un virus virulent. 19 au moins des 20 poussins vaccinés doivent résister et tous les poussins témoins doivent succomber en présentant des symptômes et des lésions de Maladie de Newcastle.

2.2.5. *Vaccin trivalent contre BVD-MD, IBR-IPV, PI-3 (lyophilisé).*

Définition. Mélange de liquides de culture de cellules obtenus par la culture des virus modifiés de BVD-MD, IBR-IPV et PI-3.

Innocuité. Un veau âgé de 7-14 jours, réceptif aux trois virus, est inoculé par voie intramusculaire avec 10 doses vaccinales. Le veau est examiné cliniquement et sa température relevée pendant une période de 10 jours.

Innocuité. 3 souris sont inoculées par voie sous-cutanée avec 0,2 ml d'une dilution à 1/5 du vaccin.

Teneur en virus (ECP_{50} et HAS_{50}). Avant lyophilisation, est mesurée pour chaque virus en culture de cellules.

— ECP_{50}/ml pour les virus IBR-IPV et BVD-MD doit être = $\geqslant 10^{-6}$.
— HAS_{50} pour PI-3 doit être = $\geqslant 10^{-6}$.

Après lyophilisation, on ne détermine que HAS_{50}/ml pour PI-3, qui doit être $\geq 10^{-5}$.

Efficacité. Elle est déterminée indirectement par l'épreuve de neutralisation du virus en culture de cellules et l'épreuve d'inhibition de l'hémagglutination en utilisant des échantillons de sérum prélevés 10 jours au moins après la vaccination intramusculaire à la dose préconisée, de 5 veaux réceptifs âgés de 4-6 mois.

Pour les virus IBR-IPV et BVD-MD, l'indice de neutralisation doit être $\geq$ 2 $\log_{10}$ et le titre H.I. pour le virus PI-3 doit être $\geq$ 1/32.

2.2.6. *Vaccin anti-rabique (lyophilisé et liquide).*

Définition. Le vaccin liquide est une suspension de cerveau de mouton contenant le virus fixe de la Rage, additionné d'hydroxyde d'aluminium.

Le vaccin lyophilisé est une suspension de cerveau de mouton contenant le virus fixe de la Rage, reconstitué immédiatement avant emploi avec de l'hydroxyde d'aluminium comme diluant.

Innocuité. Pour les deux formes de vaccins, 2 lapins pesant environ 2 kg sont inoculés par voie sous-cutanée avec 2 ml de vaccin.

Viabilité. Elle est contrôlée pour le vaccin liquide en utilisant 2 lapins pesant environ 2 kg qui sont inoculés par voie intracérébrale avec 0,3 ml de vaccin. Les lapins doivent mourir dans les 6-10 jours en présentant des symptômes de Rage paralytique.

Teneur en virus (LD_{50}). Elle est mesurée pour le vaccin lyophilisé sur souris inoculées avec 0,3 ml. La LD_{50}/0,03 ml doit être $\geq 10^{-4}$.

Efficacité. 5 brebis sont inoculées par voie sous-cutanée à la dose préconisée. L'inoculation d'épreuve a lieu 14-21 jours plus tard par la voie oculaire avec au moins 2.500 LD_{50}/0,03 ml pour souris de virus rabique fixe. Toutes les brebis vaccinées doivent résister et les brebis témoins doivent mourir en présentant des symptômes de Rage paralytique.

3. Antisérums.

Pour tous les antisérums contenant 0,5 % de phénol et éventuellement 0,01 % de thiomersal, le contrôle de l'innocuité est effectué en utilisant 2 souris pesant 18-22 g, qui sont inoculées par voie sous-cutanée avec 0,5 ml, 2 cobayes inoculés par voie intramusculaire avec 5 ml et 2 lapins inoculés par voie sous-cutanée avec 5 ml. A

l'issue d'une période d'observation de 10 jours, les animaux ne doivent présenter aucune sorte de réaction. L'épreuve peut être répétée en utilisant un nombre d'animaux deux fois supérieur.

3.1. *Sérums anti-bactériens.*

3.1.1. *Antisérum de la Fièvre charbonneuse.*

Définition. Sérum hyperimmun préparé par inoculation renouvelée de chevaux et de bovins avec des suspensions de spores de *B. anthracis,* souche non encapsulée, avirulente, 1190-R.

Efficacité. Aucune épreuve de protection sur souris et lapins ne s'est avérée convenir du point de vue de la fiabilité des résultats.

Le sérum contenant des précipitines à un titre de 1/32 en trois minutes peut être utilisé dans une réaction d'Ascoli pour le diagnostic de laboratoire de la Fièvre charbonneuse.

3.1.2. *Antisérum du Charbon symptomatique.*

Définition. Sérum hyperimmun obtenu de bovins inoculés successivement avec des cultures inactivées, des cultures virulentes et des toxines centrifugées de *Cl. chauvoei.*

Efficacité. Un groupe de 8-10 cobayes pesant 550-400 g sont inoculés par voie sous-cutanée avec 0,3 ml de sérum puis soumis à une inoculation d'épreuve, ainsi que 2 cobayes témoins, avec 1-2 MLD d'une culture virulente. Les cobayes immunisés doivent résister dans une proportion de 75-80 %, tandis que les cobayes témoins doivent succomber dans les 72 heures.

3.1.3. *Antisérum d'*Escherichia coli.

Définition. Sérum hyperimmun obtenu de bovins et de porcs inoculés avec des cultures inactivées et vivantes de souches sélectionnées de *E. coli* (les 10-12 sérotypes les plus fréquemment observés dans notre pays).

Efficacité. Une méthode originale étudiée à l'Institut « Pasteur » de Bucarest est utilisée. Des groupes de 5-6 souris pesant 18-20 g sont inoculés par voie intraveineuse avec respectivement 0,1, 0,2, 0,3 et 0,4 ml de sérum. Ces souris ainsi que 3-5 autres souris témoins sont soumises à une inoculation d'épreuve avec 10.000 LD_{50} d'une culture vivante de *E. coli* (un mélange des mêmes souches que celles utilisées pour l'hyperimmunisation) diluée dans un milieu renforçant la virulence des germes. La DP_{50} pour les souris traitées par le sérum doit être de 0,25 ml tandis que toutes les souris témoins doivent suc-

comber dans les 72 heures et que *E. coli* doit être isolé du cœur et éventuellement du cerveau.

3.1.4. *Antisérum de* Pasteurella multocida.

Définition. Sérum hyperimmun obtenu de bovins inoculés de façon répétée avec des cultures inactivées et vivantes de *P. multocida.*

Efficacité. Est contrôlée sur souris pesant 18-20 g inoculées par voie intrapéritonéale avec 0,2 ml de sérum. Ces souris doivent résister dans une proportion de 80 % à une inoculation d'épreuve avec 10 000 MLD d'une culture virulente, tandis que les souris témoins doivent succomber en 24-48 heures.

3.1.5. *Antisérum du Rouget du porc.*

Définition. Sérum hyperimmun obtenu de chevaux inoculés par voie intramusculaire avec un certain nombre de doses croissantes de cultures vivantes virulentes de *E. insidiosa.*

Efficacité. Est contrôlée sur souris pesant 14-16 g en utilisant la méthode internationale recommandée par la Commission d'Experts pour la Standardisation des Produits Biologiques, comparée à un standard national. Le sérum doit contenir au moins 100 U.I./ml.

3.2. *Sérums antitoxiques.*

3.2.1. *Antisérum gangréneux polyvalent (antitoxine).*

Définition. Mélange d'antisérum de *Cl. œdematiens,* d'antisérum de *Cl. septicum* et d'antisérums de *Cl. welchii,* types A, B, C, D obtenus de chevaux inoculés avec les toxines correspondantes.

Efficacité. Est contrôlée selon la méthode internationale recommandée par la Commission d'Experts pour la Standardisation des Produits Biologiques, comparée à un standard national, en utilisant des souris pesant 18-20 g. Un ml d'antisérum gangréneux polyvalent doit contenir au moins 100 U.I. d'antitoxine de *Cl. œdematiens,* 50 U.I. d'antitoxine de *Cl. septicum,* 50 U.I. de toxine alpha de *Cl. welchii,* 200 U.I. d'antitoxine beta de *Cl. welchii* et 50 U.I. d'antitoxine epsilon de *Cl. welchii.*

3.2.2. *Antisérum de* Clostridium tetani *(antitoxine).*

Définition. Sérum hyperimmun obtenu de chevaux inoculés avec le toxoïde et la toxine de *Cl. tetani.*

Efficacité. Est contrôlée selon la méthode internationale recommandée par la Commission d'Experts pour la Standardisation des

Produits Biologiques, comparée à un standard national, utilisant des souris. Le titre de l'antitoxine doit être d'au moins 400 U.I./ml.

4. *Allergènes, antigènes et sérums pour le diagnostic.*

4.1. *Allergènes.*

4.1.1. *Tuberculines P.P.D.*

Définition. Fractions protéiques purifiées obtenues de cultures de *Mycobacterium bovis* pour le type de tuberculine humano-bovine et de *Mycobacterium avium* pour la tuberculine aviaire. Dans la pratique, elles sont utilisées sous forme de solutions dans un diluant tamponné glycériné et additionné de 0,5 % de phénol, contenant respectivement 100.000 U.I./ml pour la tuberculine humano-bovine et 25.000 U.I./ml pour la tuberculine aviaire.

Innocuité. Est contrôlée sur cobayes.

Spécificité. Des bovins indemnes d'infection à mycobactéries sont utilisés.

Efficacité. Est mesurée sur des bovins expérimentalement sensibilisés à la mycobactérie homologue, par comparaison avec un standard national de référence ayant un pouvoir révélateur égal au standard international.

4.1.2. *Malléine P.P.D.*

Définition. Fraction protéique purifiée obtenue de culture de *Malleomyces mallei,* utilisée dans la pratique sous forme de solution dans un diluant tamponné glycériné et contenant 0,5 % de phénol, dont la teneur est de 50 unités conventionnelles/0,1 ml pour l'épreuve intradermopalpébrale et de 500 unités conventionnelles/ml pour l'épreuve sous-cutanée.

Innocuité. Est contrôlée sur cobayes sains.

Spécificité. Est contrôlée sur chevaux sains par inoculation intradermopalpébrale et sur bovins sains par inoculation sous-cutanée.

Pouvoir antigénique (activité sensibilisatrice). Utilisation de cobayes sains.

Efficacité. Est déterminée par comparaison avec un standard de référence contenant 1.000 unités conventionnelles/0,1 ml P.P.D., en utilisant des bovins et des cobayes expérimentalement sensibilisés.

4.1.3. *Paratuberculine P.P.D. (Johnine P.P.D.).*

Définition. Fraction protéique purifiée obtenue de cultures de *Mycobacterium paratuberculosis,* utilisée dans la pratique en solu-

tion dans un diluant tamponné glycériné contenant 0,5 % de phénol.

Innocuité. Emploi de cobayes.

Spécificité. Est déterminée sur bovins de troupeaux indemnes de Tuberculose et de Paratuberculose.

Efficacité. Est contrôlée sur cobayes ou bovins rendus expérimentalement réceptifs à *M. tuberculosis* et *M. paratuberculosis,* par comparaison avec les standards nationaux de tuberculine et tuberculine P.P.D. ayant une activité égale aux standards internationaux.

4.1.4. *Allergènes brucelliques de types bovin et porcin.*

Définition. Fractions protéiques purifiées obtenues de cultures respectivement de *Brucella abortus* et de *Brucella suis.*

Innocuité. Utilisation de souris blanches.

Spécificité. Utilisation respectivement de bovins et de porcs en bonne santé.

Efficacité (activité révélatrice). Pour l'allergène brucellique pour porcs, des porcs sensibilisés expérimentalement sont utilisés par comparaison avec un allergène de référence contenant 250 unités conventionnelles/0,25 mg P.P.D. L'allergène pour bovins est testé biochimiquement par comparaison avec un allergène de référence contenant 1.000 unités conventionnelles/1 mg P.P.D.

4.2. *Antigènes pour le diagnostic sérologique.*

4.2.1. *Antigène brucellique pour l'épreuve de l'anneau sur le lait.*

Définition. Une suspension de germes inactivés de la souche Weybridge 99 stable à la phase « S » colorée à l'hématoxiline.

Contrôle de l'inactivation. Emploi de milieux spéciaux pour Brucelles.

Spécificité. Est déterminée en utilisant du lait de vaches indemnes de Brucellose.

Efficacité. Est contrôlée par deux épreuves : l'épreuve d'agglutination par comparaison avec un standard national d'activité égale à un standard international (10 U.I./ml) et l'épreuve de l'anneau sur le lait contenant une quantité déterminée d'anticorps.

4.2.2. *Antigène pour le diagnostic de l'infection à* Salmonella pullorum.

Définition. Suspension concentrée de culture inactivée de *Salmonella pullorum,* contenant 3 facteurs antigéniques « O » : 9, 12_1, 12_3.

Spécificité. Est déterminée en utilisant des sérums négatifs connus.

Efficacité. Est contrôlée contre un standard national de sérum agglutinant : dans l'épreuve rapide sur plaque, 0,1 ml d'antigène est agglutiné à 50 % en 2 minutes par un volume égal de sérum contenant 0,5 U.I. et, dans l'épreuve lente, 1 ml d'antigène dilué à 1/4 est agglutiné à 50 % par 1 ml de sérum contenant 1 U.I.

4.2.3. *Antigène de* Brucella ovis *pour la fixation du complément.*

Définition. Un extrait par traitement thermique de germes *Brucella ovis* souche « 34 T » à la phase « R », dans une solution physiologique phénolée.

Efficacité. Est contrôlée contre un sérum positif connu et est livré à un titre de 0,2 ml d'une dilution à 1/50 (+ + + +) n'ayant aucune propriété anticomplémentaire à une dose trois fois plus grande que la dose de fixation.

4.3. *Antisérums de diagnostic.*

4.3.1. *Antisérum précipitant de la Fièvre charbonneuse.*

Il est décrit sous la Section 1.1.1.

4.3.2. *Alexine (complément).*

Définition. Sérum frais de cobayes sains, lyophilisé.

Efficacité. Est testée contre un système hémolytique contenant 1,25 % d'hématies de mouton et est agréée lorsque la dilution à 1/10 a un titre d'au plus 0,30 ml.

4.3.3. *Hémolysine.*

Définition. Sérum de lapin contre hématies de mouton, phéniquée à 0,5 %.

Efficacité. Est mesurée contre 1 ml d'une suspension d'hématies de mouton à 1,25 %, le titre ne devant pas être inférieur à 1 : 2 000.

5. *Liste des principaux antibiotiques nationaux utilisés en Roumanie en thérapeutique vétérinaire : Conseils d'utilisation et contrôle.*

Ampicilline sodium, Chloramphénicol, Erythromycine Lactobionate, Methicilline, Moldamine, Negamycine, Pénicilline, Solvocilline, Streptomycine, Hydrochlorure de Tétracycline.

La production des antibiotiques et plus généralement des médicaments à usage vétérinaire est sous le contrôle du Ministère de l'Agriculture par l'intermédiaire de la Commission des médicaments à usage vétérinaire qui donne des instructions formelles aussi bien thérapeutiques que pour la production sur la base de données physico-chimiques, biologiques et thérapeutiques.

Le contrôle de la production courante est effectuée par les laboratoires des usines de production de même que par le laboratoire de Contrôle des produits biologiques et des médicaments à usage vétérinaire du Ministère de l'Agriculture, suivant les conditions requises nationales selon la Pharmacopée Roumaine, par comparaison avec les standards nationaux.

La détermination du spectre d'activité spécifique est nécessaire pour l'identification et la détermination quantitative des produits suivants : Méthicilline, Pénicilline, Streptomycine et hydroxyde de Tétracycline.

Détermination de l'humidité et du pourcentage de perte par dessication. La quantité.d'eau de cristallisation provenant des substances cristallisées et l'humidité des substances sont déterminées par différentes procédures pour les produits suivants : armoire séchante : Chloramphénicol et Pénicilline; séchage sous vide : Erythromycine lactobionate, Solvocilline, Streptomycine et hydrochlorure de Tétracycline; séchage par exhication : Moldamine; titrage avec le réactif de Karl-Fischer : Ampicilline, Méthicilline.

Détermination des résidus par calcination. Elle est effectuée pour le Chloramphénicol, le lactobionate d'Erythromycine et la Moldamine.

Contrôle des limites des chlorures et des sulfates. Est réalisé pour le Chloramphénicol.

Contrôle des limites d'intensité des méthodes. Est réalisé pour la Moldamine, la Pénicilline, la Solvocilline et la Streptomycine.

Détermination de la teneur en principes actifs.

a) *Méthodes physico-chimiques :*

1) Iodométrique : Ampicilline, Méthicilline, Moldamine, Pénicilline.

2) Spectrophotométrique : Méthicilline, Moldamine, Pénicilline, Solvocilline.

b) *Méthode microbiologique* utilisant la technique de diffusion en gel d'agarose. La zone d'inhibition d'une croissance de micro-organismes-test, produite par des concentrations définies d'antibiotique à examiner est comparée aux zones d'inhibition produites par des concentrations connues d'un standard national de l'antibiotique ou une préparation de référence utilisée comme standard. Les micro-organismes utilisés pour cette méthode sont : *B. subtilis* 2589 pour l'Ampicilline sodium, Chloramphénicol, Négamycine, Solvocilline, hydrocarbure de Tétracycline, *B. subtilis* 6633 pour la Méthicilline, *Sarcina lutea* 9341 pour le lactobionate d'Erythromycine, *Staphylococcus aureus* 6538 P pour la Pénicilline et la Moldamine, *B. cereus var. mycoides* 537 pour la Streptomycine. L'efficacité de l'échantillon testé est calculée d'après les résultats et doit se situer dans la gamme de 90-110 % de la préparation standard.

La détermination de l'absence de toxicité est réalisée sur souris inoculées par voie intraveineuse avec une dose et une concentration dépendant de l'antibiotique qui est à tester. La mortalité ne doit pas dépasser 10 %.

Stérilité. Les milieux sont directement inoculés et placés ensuite à l'incubateur à 37°C pendant 7 jours dans le cas de bactéries et à 20-25°C pendant 10 jours dans le cas des fungi. Aucune forme quelconque de micro-organisme végétatif ou sporulé ne doit se développer.

IV. STANDARDISATION

La standardisation des produits biologiques à usage vétérinaire est l'objet d'un soin constant et très grand de l'Institut « Pasteur » pour la Recherche Vétérinaire et les Produits Biologiques de même que du Laboratoire de Contrôle pour les Produits Biologiques et les Médicaments à usage vétérinaire.

Des standards internationaux, nécessaires pour l'établissement de nos standards nationaux, sont périodiquement reçus du Laboratoire Vétérinaire Central de Weybridge et de l'Institut d'Etat des Sérums de Copenhague.

Bull. Off. int. Epiz., 1978, **89** (5-6), 295-299.

Liste des produits biologiques utilisés en médecine vétérinaire en Bulgarie

par

Z. ZACHARIEV

N°	Appellation de la préparation	Organisme producteur
	I. SÉRUMS	
1.	Anthrax	Institut d'Immunobiologie, Sofia
2.	Tétanos	Institut d'Immunobiologie, Sofia
3.	Dysenterie anaérobie	Institut d'Immunobiologie, Sofia
4.	D-Entérotoxémie	Institut d'Immunobiologie, Sofia
5.	Gangrène emphysémateuse	Institut d'Immunobiologie, Sofia
6.	Anti-*œdematiens*	Institut d'Immunobiologie, Sofia
7.	Colibactériose	Institut d'Immunobiologie, Sofia
8.	Sérum de cheval normal	Institut d'Immunobiologie, Sofia
9.	Parainfluenza trivalent, adénovirus et rhinotrachéite	Institut d'Immunobiologie, Sofia
10.	Sérums de juments pleines	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
11.	Maladie de l'œdème	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
12.	Maladie d'Aujeszky	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
13.	Rouget du porc	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
14.	Paratyphoïde du porc	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
15.	Gammaglobuline de sérum bovin	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
16.	Gammaglobuline « œdème »	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
17.	Gammaglobuline « paratyphoïde »	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
18.	Gammaglobuline « peste »	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
19.	Gammaglobuline contre la Maladie d'Aujeszky	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza

N°	Appellation de la préparation	Organisme producteur.
20.	Gammaglobuline de sérum porcin	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
21.	Polyglobuline	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
22.	Myxoglobuline 70	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
	II. VACCINS	
23.	Anthrax	Institut d'Immunologie, Sofia
24.	Coli	Institut d'Immunologie, Sofia
25.	Mammite gangréneuse	Institut d'Immunologie, Sofia
26.	Parainfluenza (vivant)	Institut d'Immunologie, Sofia
27.	Gangrène emphysémateuse	Institut d'Immunologie, Sofia
28.	Anatoxine tétanique	Institut d'Immunologie, Sofia
29.	Choléra aviaire	Institut d'Immunologie, Sofia
30.	*Salmonella abortus ovis*	Institut d'Immunologie, Sofia
31.	Agalaxie contagieuse des ovins	Institut d'Immunologie, Sofia
32.	Peste aviaire souche Komarov	Institut d'Immunologie, Sofia
33.	Peste aviaire souche La Sota	Institut d'Immunologie, Sofia
34.	Peste aviaire souche Hitchner B_1	Institut d'Immunologie, Sofia
35.	Rage	Institut d'Immunologie, Sofia
36.	Variole et Diphtérie aviaire FK	Institut d'Immunologie, Sofia
37.	Variole et Diphtérie aviaire Dessau	Institut d'Immunologie, Sofia
38.	Entérotoxémie	Institut d'Immunologie, Sofia
39.	Polyvaccin	Institut d'Immunologie, Sofia
40.	Spirochétose	Institut d'Immunologie, Sofia
41.	Ecthyma contagieux	Institut d'Immunologie, Sofia
42.	Rhinotrachéite (vivant)	Institut d'Immunologie, Sofia
43.	Maladie des muqueuses (vivant)	Institut d'Immunologie, Sofia
44.	Maladie des muqueuses (inactivé)	Institut d'Immunologie, Sofia
45	Rhinotrachéite (inactivé)	Institut d'Immunologie, Sofia
46	Maladie de Marek	Institut d'Immunologie, Sofia
47.	Peste porcine (lapinisé K)	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
48.	MK — 25 contre la Maladie d'Aujeszky	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
49.	Bivaccin : Peste, Rouget	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
50.	Rouget	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
51.	Leptospirose	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
52.	Paratyphoïde	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
53.	Ethanol-saponine-Aujeszky	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza

N°	Appellation de la préparation	Organisme producteur
54.	Trivaccin : Peste, Rouget et Aujeszky	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
55.	Préparation tissulaire de Filatov	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
56.	Virus de la Peste Porcine	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
57.	Vaccin anti-aphteux type A	Institut pour la lutte contre la Fièvre Aphteuse et les maladies contagieuses, Sofia
58.	Vaccin anti-aphteux, type O	Institut pour la lutte contre la Fièvre Aphteuse et les maladies contagieuses, Sofia
59.	Vaccin anti-aphteux, type C	Institut pour la lutte contre la Fièvre Aphteuse et les maladies contagieuses, Sofia

III. PRODUITS POUR DIAGNOSTICS

60.	Tuberculine aviaire alt	Institut d'Immunologie, Sofia
61.	PPD bovine	Institut d'Immunologie, Sofia
62.	PPD aviaire	Institut d'Immunologie, Sofia
63.	Malléine	Institut d'Immunologie, Sofia
64.	Sérum Ascoli précipitant	Institut d'Immunologie, Sofia
65.	Sérum Brucella agglutinant	Institut d'Immunologie, Sofia
66.	Morve ambocepteur	Institut d'Immunologie, Sofia
67.	Hémolysine	Institut d'Immunologie, Sofia
68.	Dourine ambocepteur	Institut d'Immunologie, Sofia
69.	Antigène Brucellique Handesson	Institut d'Immunologie, Sofia
70.	Antigène Brucellique Wright	Institut d'Immunologie, Sofia
71.	Antigène extraction aqueuse	Institut d'Immunologie, Sofia
72.	Antigène Brucellique Guinsbourg	Institut d'Immunologie, Sofia
73	Morve, antigène aqueux	Institut d'Immunologie, Sofia
74.	Antigène dourine.RLC	Institut d'Immunologie, Sofia
75.	Antigène typhus	Institut d'Immunologie, Sofia
76.	Antigène *Salmonella abortus ovis*	Institut d'Immunologie, Sofia
77.	Ambocepteur Brucellique	Institut d'Immunologie, Sofia
78.	Ambocepteur Brucellique	Institut d'Immunologie, Sofia
79.	Complément sec	Institut d'Immunologie, Sofia
80.	Sérum agglutinant Vibriose	Institut d'Immunologie, Sofia
81.	Agglutinant OB salmonella sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
82.	Agglutinant OC salmonella sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
83.	Agglutinant OD salmonella sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
84.	Agglutinant OE salmonella sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
85.	Agglutinant OH salmonella sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
86.	Agglutinant O_7 salmonella sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
87.	Agglutinant O_8 salmonella sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
88.	Agglutinant O_9 salmonella sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
89.	Agglutinant H_k salmonella sérum	Institut d'Immunologie, Sofia

N°	Appellation de la préparation	Organisme producteur
90.	Agglutinant H salmonella sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
91.	Agglutinant OK_1 coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
92.	Agglutinant O_2 coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
93.	Agglutinant O_4 coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
94.	Agglutinant O_7 coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
95.	Agglutinant O_{15} coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
96.	Agglutinant O_{18} coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
97.	Agglutinant O_{21} coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
98.	Agglutinant O_{26} coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
99.	Agglutinant O_{35} coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
100.	Agglutinant O_{54} coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
101.	Agglutinant O_{55} coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
102.	Agglutinant O_{78} coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
103.	Agglutinant O_{86} coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
104.	Agglutinant O_{101} coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
105.	Agglutinant O_{105} coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
106.	Agglutinant O_{117} coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
107.	Agglutinant O coli sérum	Institut d'Immunologie, Sofia
108.	Ambocepteur *Brucella ovis*	Institut d'Immunologie, Sofia
109.	Antigène *Brucella ovis*	Institut d'Immunologie, Sofia
110.	Antigène MSA vibriose	Institut d'Immunologie, Sofia
111.	Sérum antiéquin précipitant	Institut d'Immunologie, Sofia
112.	Sérum antibovin précipitant	Institut d'Immunologie, Sofia
113.	Sérum antiruminant précipitant	Institut d'Immunologie, Sofia
114.	Sérum antiporcin précipitant	Institut d'Immunologie, Sofia
115.	Sérum anticanin précipitant	Institut d'Immunologie, Sofia
116.	Sérum antifélin précipitant	Institut d'Immunologie, Sofia
117.	Sérum antiaviaire précipitant	Institut d'Immunologie, Sofia
118.	Antigène Fièvre Q	Station vétérinaire de diagnostic expérimental, Roussé
119.	*Escherichia coli* diagnostiques	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza

IV. DILUANTS

120.	Diluant pour le virus de Marek	Institut d'Immunologie, Sofia
121.	Diluant pour le virus de la Rage	Institut d'Immunologie, Sofia
122.	Diluant pour la Diphtério-variole	Institut d'Immunologie, Sofia
123.	Diluant pour la Clavelée	Institut d'Immunologie, Sofia
124.	Diluant pour la Parainfluenza	Institut d'Immunologie, Sofia
125.	Diluant pour la Rhinotrachéite	Institut d'Immunologie, Sofia
126.	Diluant pour la Maladie des muqueuses	Institut d'Immunologie, Sofia
127.	Diluant pour le Rouget	Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza
128.	Diluant contre le virus MK-25 Aujeszky	Institut pour la lutte contre les maladies du porc
129.	Diluant contre K lapinisé	Institut pour la lutte contre les maladies du porc

V. MILIEUX NUTRITIFS

N°	Appellation de la préparation	Organisme producteur
130.	Au total, 78 milieux nutritifs différents	Institut d'Immunologie, Sofia et Institut pour la lutte contre les maladies du porc, Vratza

Les produits biologiques précités sont testés avant leur mise en œuvre pour déterminer la pureté, la stérilité bactériologique, la nocivité, la spécificité et l'activité.

Les tests de stérilité bactériologique sont conduits dans des milieux nutritifs ordinaires. Quant aux tests des moisissures, il faut des milieux nutritifs spéciaux et une parfaite stérilité des produits biologiques.

La nocivité des produits biologiques est testée sur des animaux sensibles, avec une parfaite stérilité des préparations.

La spécificité et l'activité des produits sont testées conformément aux normes d'appréciation existant au niveau des différentes préparations.

*
* *

Bull. Off. int. Epiz., 1978, **89** (5-6), 301-304.

The biological products for veterinary use in Finland

by

Rolf BERGER

All products are controlled by the State Veterinary Medical Institute.

Products prepared in the State Veterinary Medical Institute

Sera
Coliserum for pigs
Anthrax serum
Normal serum
Swine Erysipelas serum

Vaccines
Botulinum - C - toxoid for minks
Staphylococcus toxoid for Mastitis
Staphylococcus toxoid for dogs
Polycolivaccine
Coliculture for horses
Combined vaccine for Mastitis
Vaccine for Papillomatosis
Pyogenes vaccine
Furunculosis vaccine for dogs
Strangles vaccine
Rabies vaccine
Streptococcus equi and *Actinobacillus equuli* vaccine
SEP vaccine for swine
Killed distemper vaccine for zoo animals
Autogenic vaccines, for Mastitis, Diarrhea in pigs and Furunculosis are also prepared.

Imported vaccines and sera

For horses

A-equi-vaccine	Orion (domestic manufactor)
A-equi-vaccine T	Orion (domestic manufactor)
Prevacum	Behringwerke
Prevacum I	Behringwerke
Tetanus Toxoid	Behringwerke

For swine	
Erysorb	Behringwerke
Erocon	Dellen
Rotlauf Absorbat	Friesoythe
Gammaglobulin	Behringwerke
Haemophilus parahaemolyticus vaccine	Swiss Serum Institute
For hens	
AE vaccine, killed	SVMI Stockholm
Marivax	Wellcome
TAD-Marek	TAD
TAD-IB I, II	TAD
VI-Maker	Vineland
For calves	
Grovax	Hœchst
Rindergrippevaccine	Hœchst
For sheep	
Heptavac	Hœchst
For minks and foxes	
Botalinum-C-toxoid	United
Mink enteritis vaccine	ASL, United, Conaught
Mink enteritis + Botalinum-C-toxoid	Conaught
Mink distemper vaccines	Conaught + Behringwerke
Mink distemper Spray	Behringwerke United
Fox Encephalitis vaccine	Behringwerke United
For dogs	
Distemper and HCC vaccines	
For cats	
Panleucopenia vaccines	

*
* *

Antigens	
Brucella abortus	VELL
Brucella melitensis	VELL
Brucella ovis	VELL
Brucella suis	VELL
Pseudomonas mallei	VELL
Salmonella pullorum	VELL
Salmonella abortus equi	VELL
Campylobacter fetus	VELL
Mycobacterium paratuberculosis	Denmark
Listeria monocytogenes 4 b : 0	Behringwerke
Listeria monocytogenes 1 : 0	Behringwerke
Francisella tularensis	Difco
Antisera	
Mycobacterium avium antiserum	VELL
Coli antisera (pig)	VELL

Brucella abortus antiserum	VELL
Campylobacter fetus antiserum	VELL
Listeria-Kontroll-Serum	Behringwerke
Salmonella typing sera	Behringwerke
Coli-antisera (calf)	Behringwerke
Francisella tularensis antiserum	Difco
Leptospira antisera	Difco
Clostridial diagnostic sera	Wellcome
Brucella ovis antisera	SVA
Pseudomonas mallei	SVA

VELL = Antigens or antisera are prepared in State Veterinary Medical Institute in Finland.
SVA = Antigens or antisera are prepared in State Veterinary Medical Institute in Sweden.

*
* *

Virus diagnostical reagents in State Veterinary Medical Institute in Finland 1978.

Viruses		
Avian Encephalitis (AE)	2 strains	and antisera
Avian Leucosis	4 strains	antisera
Aujeszky's Disease	2 strains	antisera
Bovine adeno	3 strains	
Canine Distemper	2 strains	antisera
CELO	1 strain	
Rhinopneumonitis	1 strain	antisera
Equine coetal exanthema	1 strain	antisera
Equine arteritis	1 strain	
ECBO	4 strains	
ECPO (SMEDI)	7 strains	
Ectromelia	1 strain	
FMD (A, O, C)	3 strains	antisera
Feline Rhinotracheitis	1 strain	
GAL	3 strains	
IB	20 strains	antisera
IBR	1 strain	antisera
ILT	2 strains	antisera
IPN	1 strain	antisera
Influenza avium	1 strain	antisera
Influenza equi	3 strains	antisera
IBD	1 strain	antisera
Marek's Disease	1 strain	
NDV	4 strains	antisera
PI_3	2 strains	antisera
Porcine adeno	1 strain	
Reo (human)	1 strain	
VD	3 strains	
Rabies		
Virus fixed Wien		
Virus fixed Pitman Moore		
Virus fixed CVS		

Mycoplasmas

Mycoplasma hyorhinis	10 strains	antisera
M. hyopneumoniae	3 strains	
PPLO from different origins	20 strains	

Rickettsiaes

Chlamydia psittaci	5 strains	antisera

All the agents are produced by ourselves. FMD antisera are from Reference Laboratories.

*
* *

Imported Reagents

Bovine Leukosis for AGP		antigen and antisera
Infectious Anemia	for AGP	antigen and antisera
M. gallisepticum	agglutination	antigen
M. synoviae	agglutination	antigen
Rhinopneumonitis	CF	antigen
Anti-guinea pig conjugate	for FA	
Anti-chicken conjugate	for FA	
Anti-rabbit conjugate	for FA	
Anti-Rabies conjugate	for FA	

Bull. Off. int. Epiz., 1978, **89** (5-6), 305-312.

Le système de contrôle officiel des produits vétérinaires en U.R.S.S.

par

D.F. OSSIDZÉ et N.F. TCHOUKLOV (*)

L'essor continu de l'agriculture est considéré en U.R.S.S. comme un objectif essentiel de tout l'Etat et de tout le peuple. Pour atteindre cet objectif, un rôle considérable est attribué à la prophylaxie des différentes maladies des animaux d'élevage. Afin d'assurer à l'élevage du pays des produits biologiques de haute qualité, on a construit de grandes entreprises de produits biologiques pour la fabrication des vaccins, des sérums, des produits de diagnostic et des autres produits dont l'utilisation joue un grand rôle dans l'amélioration du bon état sanitaire de l'élevage.

L'emploi des produits biologiques a eu pour résultat l'élimination de la Péripneumonie contagieuse et de la Peste bovines, de la Morve, de la Clavelée, et une forte diminution de maladies comme la Fièvre Aphteuse, la Peste et le Rouget du porc, la Fièvre charbonneuse, le Charbon symptomatique, la Maladie d'Aujeszky, la Maladie de Newcastle, la Variole aviaire, les Pasteurelloses et Salmonelloses. La morbidité due aux Helminthiases et aux maladies parasitaires animales a notablement diminué.

Actuellement sont proposés de nouveaux produits biologiques pour la prophylaxie et le diagnostic des maladies virales et bactériennes propres aux animaux des grands complexes d'élevage industriels. Les acquisitions de la science et l'expérience d'avant-garde dans la lutte contre les maladies non contagieuses sont largement mises en pratique. Un choix varié de produits à base de vitamines, de ferments et d'hormones, de stimulateurs de la croissance et du développement des animaux, d'antibiotiques, de produits pré-mixés, de sup-

(*) Ministère de l'Agriculture de l'U.R.S.S., Institut d'Etat de l'U.R.S.S. pour le contrôle scientifique des produits vétérinaires, Moscou.

pléments alimentaires à base de protéines et de vitamines, de coccidiostatiques, de produits pharmacologiques, etc., permet d'améliorer l'accroissement en poids des animaux, de prévenir les maladies des animaux jeunes et adultes, de réduire les pertes en bétail et en volailles, d'accroître l'efficacité économique de l'élevage. Les produits utilisés pour l'insémination artificielle des animaux jouent un rôle important dans la reproduction du cheptel.

Les besoins accrus en produits de traitement et de diagnostic conditionnent la nécessité d'en accroître la production et de renforcer le contrôle de la qualité des produits. C'est pour cela qu'a été organisé l'Institut d'Etat de l'U.R.S.S. pour le contrôle scientifique des produits vétérinaires (VGNKI) qui, dans le cadre de la Direction Générale Vétérinaire du Ministère de l'Agriculture de l'U.R.S.S., constitue l'établissement unique qui gère le système du contrôle officiel de la production et de la qualité des produits biologiques et des produits chimiques utilisés dans l'élevage et en médecine vétérinaire, qu'ils soient fabriqués dans les entreprises de l'industrie biologique du Ministère de l'Agriculture de l'U.R.S.S., dans les entreprises dépendant d'autres ministères et administrations ou qu'ils soient importés d'autres pays.

L'Institut règle à l'échelle du pays les questions d'approbation, de perfectionnement et de standardisation des produits vétérinaires et des méthodes de leur contrôle; il fournit aux entreprises et usines de produits biologiques des souches industrielles hautement immunogènes de micro-organismes qui sont utilisées pour la fabrication et le contrôle des produits biologiques.

Actuellement, l'Institut exerce un contrôle officiel sur chaque série de tous les produits livrés par les fabriques et les combinats biologiques du Ministère de l'Agriculture de l'U.R.S.S.; il contrôle de manière sélective les produits livrés par les entreprises dépendant des autres ministères et administrations.

En outre, l'Institut contrôle les produits utilisés pour l'insémination artificielle des animaux d'élevage ainsi que les produits provenant d'autres pays.

Les contrôleurs officiels du VGNKI ont pour tâche :

— le contrôle de la qualité des matières premières et des matériels utilisés pour la fabrication des produits biologiques, conformément aux conditions requises par les documents normatifs techniques;

— le contrôle de la technologie de fabrication des produits biologiques conformément au règlement régissant leur production;

— le contrôle des produits finis conformément aux conditions requises par les standards.

Les *standards* sont des documents normatifs techniques établissant un ensemble de normes, de règles, de conditions requises à des fins de standardisation, ratifiées suivant des modalités définies. Ils sont élaborés sur la base des acquisitions de la science, de la technique, de l'expérience d'avant-garde, et prévoient les solutions optimales. Suivant leur destination, leur contenu et la forme de leur ratification, les standards se subdivisent en U.R.S.S. en différentes catégories et sortes. Ces catégories sont : les standards d'Etat (GOST), dont l'application est obligatoire pour toutes les entreprises, organisations et administrations dans tous les secteurs de l'économie nationale sur le territoire de l'U.R.S.S.; les standards sectoriels (OST), obligatoires pour toutes les entreprises et organisations d'un secteur donné, ainsi que des autres secteurs (clients) qui utilisent (consomment) la production de ce secteur; les standards des républiques (RST), obligatoires pour toutes les entreprises et organisations d'une république, quelle que soit l'administration dont elles dépendent; les standards d'entreprises (de groupements) (STP), obligatoires uniquement pour l'entreprise ou le groupement qui a ratifié le standard en question.

Les standards concernant les préparations virales, par exemple, comportent le contrôle de la stérilité du point de vue bactérien et l'absence de contaminants viraux, l'innocuité (absence de phénomènes secondaires), le pouvoir anaphylactogène, la sécurité épizootique et épidémique (pour les vaccins vivants contre les anthropozoonoses), le pouvoir réactogène, l'activité antigénique et l'efficacité immunogène (degré d'efficacité prophylactique du produit). Les vaccins lyophilisés sont vérifiés quant à l'humidité résiduelle et les vaccins inactivés le sont pour un certain nombre d'indices physico-chimiques.

Comme on le sait, la qualité des produits et leur conformité avec les standards dépendent pour beaucoup du niveau des conditions requises énoncées dans les documents normatifs techniques. En outre, tous les paramètres des souches industrielles proposées de cultures de micro-organismes doivent être bien élaborés, leur stabilité et leur pouvoir immunogène doivent être bien étudiés.

Le matériel viral est obtenu à partir d'animaux exempts de microflore bactérienne (animaux SPF), caractérisés par un statut défini. Une grande importance est attachée au caractère standard des cultures cellulaires utilisées, etc.

La concentration et l'intensification de l'élevage, l'utilisation de procédés technologiques nouveaux pour l'élevage et l'entretien des animaux, ont exigé de la science et de la pratique l'élaboration de nouvelles préparations pharmacologiques destinés à prévenir les différentes maladies, à supplémenter les rations, à stimuler le rendement, etc.

Dans les conditions d'une demande accrue pour de nouveaux produits pharmocologiques, la nécessité est apparue de perfectionner le travail en vue de leur approbation et de leur adoption par la médecine vétérinaire et l'élevage. Compte tenu des circonstances nouvelles (afflux considérable de préparations pharmacologiques, éventualité de leur effet à long terme sur les animaux et l'homme), des modalités bien définies ont été adoptées dans notre pays pour la mise à l'épreuve et l'application des produits pharmacologiques nouveaux, soviétiques et étrangers, proposés à des fins curatives et prophylactiques, pour l'accroissement de la productivité des animaux, pour les additifs alimentaires, etc.

A cet effet, a été crée, auprès de la Direction Générale Vétérinaire du Ministère de l'Agriculture de l'U.R.S.S., un Conseil pharmacologique vétérinaire; des conditions requises ont été élaborées pour ces préparations pharmacologiques proposées par les différents établissements de recherche scientifique du pays et par les firmes étrangères. Conformément à ces conditions requises, les produits pharmacologiques doivent faire l'objet d'études expérimentales ayant pour but de démontrer l'activité spécifique de chaque produit et d'en assurer l'innocuité lors des essais sur le terrain. La solution de la première tâche est obtenue en utilisant les méthodes de la chimiothérapie, celle de la seconde par des examens pharmacologiques et toxicologiques.

L'étude de la toxicologie des produits médicamenteux est une tâche complexe, exigeant le recours à des méthodes d'examen pharmocologiques, toxicologiques, biochimiques, anatomopathologiques, hématologiques, embryologiques, oncologiques, etc. C'est pourquoi l'évaluation toxicologique des produits nouveaux est effectuée conjointement par un certain nombre de laboratoires et d'instituts.

Compte tenu du fait qu'au cours de la biotransformation des molécules des médicaments peuvent se former des métabolites à action plus forte ou sans activité, une grande attention est portée à l'étude du métabolisme des nouveaux produits pharmacologiques.

On utilise pour les examens pharmacologiques des échantillons des produits entièrement conformes, quant à leur composition, à leurs propriétés chimiques et physiques et aux autres conditions requises techniques, au produit destiné aux essais sur le terrain et à la production industrielle.

Une attention particulière est portée à la mise à l'épreuve des préparations combinées, contenant n'importe quelle quantité d'ingrédients déjà étudiés; ces produits font l'objet de nouveaux examens pharmacologiques et toxicologiques, car leur association peut modifier l'activité et la toxicité des ingrédients. Les nouveaux solvants, stabilisateurs et autres composants doivent également être caractérisés du point de vue pharmacologique et toxicologique.

La large utilisation dans l'élevage des stimulateurs de croissance a fait naître la nécessité d'étudier l'influence des quantités résiduelles de ces substances et de leurs dérivés dans les produits de l'élevage sur l'organisme animal, leur toxicité, leur pouvoir cancérigène et tératogène, les limites admissibles de leur présence dans la viande, le lait, les œufs. Ceci concerne tout particulièrement les antibiotiques. Compte tenu du fait que le traitement thermique des produits de l'élevage n'entraîne pas l'élimination complète des antibiotiques et de leurs métabolites dans ces produits, l'usage des antibiotiques comme stimulateurs de croissance est rigoureusement réglementé dans notre pays : actuellement, l'utilisation de trois antibiotiques seulement est autorisée (zinc-bacitracine, grisine, tétracycline (Biovit-20)).

On a mis au point les limites admissibles pour les quantités résiduelles d'antibiotiques dans la viande, les sous-produits, les œufs, défini les délais à respecter avant l'abattage (en moyenne 5 à 7 jours), mis au point des méthodes chimiques et biologiques pour déterminer les quantités résiduelles de substances stimulantes dans les produits de l'élevage.

L'emploi des préparations hormonales comme stimulateurs de croissance est interdit.

Parallèlement aux conditions requises rigoureuses en ce qui concerne l'évaluation toxicologique des produits vétérinaires, les condi-

tions de l'élevage industriel sont prises en considération avant leur inclusion dans la liste des produits approuvés. Cela signifie que seuls sont admis les produits pouvant être incorporés dans les aliments ou l'eau de boisson donnés à des animaux en groupe. On utilise actuellement largement dans les élevages industriels du pays les coccidiostatiques, les anthelminthiques, les insecticides et acaricides, les stimulateurs de croissance, les produits pour le traitement des affections gastro-intestinales, les préparations à base de vitamines et d'autres produits pharmacologiques de production nationale ou étrangère. Certaines préparations sont incorporées à des produits pré-mixés destinés à différentes espèces animales. Le travail dans cette direction est effectué par différents établissements de recherche scientifique du pays.

On utilise largement dans notre pays des produits pré-mixés, prophylactiques et curatifs, pour la Coccidiose des volailles et des lapins, pour les affections gastro-intestinales du porc, pour les affections respiratoires des jeunes bovins, notamment ceux des grandes unités d'élevage. Les produits pré-mixés sont également employés pour d'autres affections d'étiologie secondaire. En règle générale, les produits pré-mixés sont ajoutés à la ration de base à une dose de 1 % et administrés soit de manière permanente (Coccidiose et autres affections), soit avec des interruptions selon un schéma déterminé.

Aussi bien la composition du produit pré-mixé que sa capacité de dispersion font l'objet d'un contrôle. En outre, il est obligatoirement spécifié sur le mode d'emploi et les étiquettes de ces produits que l'abattage des animaux ne doit intervenir que 8 à 12 jours après leur administration, de manière à éviter que des quantités résiduelles de substances médicamenteuses ne soient présentes dans les produits destinés à l'alimentation humaine.

On met également au point dans notre pays des additifs de l'eau. Ces additifs permettent de faire agir massivement telle ou telle substance médicamenteuse sur les animaux par l'intermédiaire de l'eau de boisson. On peut citer parmi ces additifs des sels de micro-éléments, ainsi que l'usage de formes émulsifiées de vitamines, de coccidiostatiques et d'autres substances.

Le Ministère de l'Agriculture de l'U.R.S.S. envisage des mesures complémentaires pour le perfectionnement de la technologie industrielle, la mise en œuvre de la production de préparations d'une efficacité accrue, la mise au point et la mise en pratique de méthodes

nouvelles de fabrication et de contrôle de la qualité des produits, de standardisation des produits vétérinaires.

*
* *

RÉSUMÉ

Il existe en U.R.S.S. une industrie hautement développée des produits biologiques qui fabrique des préparations destinées à être utilisées en médecine vétérinaire et dans l'élevage; les quantités et l'assortiment de ces produits couvrent les besoins du pays.

Le contrôle officiel des produits vétérinaires à l'échelle du pays est effectué, dans le cadre de la Direction Générale Vétérinaire du Ministère de l'Agriculture de l'U.R.S.S., par l'Institut d'Etat de l'U.R.S.S. pour le contrôle scientifique des produits vétérinaires (VGNKI).

L'approbation des nouveaux produits biologiques à usage vétérinaire est effectuée par le VGNKI pour les produits vétérinaires et, pour les préparations pharmacologiques, par les laboratoires ou instituts du pays sous la direction méthodique du Conseil pharmacologique vétérinaire du Ministère de l'Agriculture de l'U.R.S.S.

Les contrôleurs officiels travaillent directement auprès des entreprises de produits biologiques du pays et sont placés sous la direction immédiate du VGNKI.

Le contrôle officiel des produits vétérinaires est effectué conformément aux conditions requises des standards; il comporte le contrôle de la qualité des matières premières et des matériels utilisés pour la fabrication des produits biologiques, le contrôle de la technologie de production et celui des produits finis en ce qui concerne la stérilité (pureté), l'innocuité, la spécificité, l'activité antigénique et l'efficacité immunogène.

Le Ministère de l'Agriculture de l'U.R.S.S. envisage la mise en œuvre de mesures complémentaires pour le perfectionnement de la technologie industrielle, la production de préparations d'une efficacité accrue, la mise au point et la mise en pratique de méthodes nouvelles de fabrication et de contrôle de la qualité des produits, de standardisation des produits vétérinaires.

*
* *

BIBLIOGRAPHIE

1. Encyclopédie Vétérinaire. Moscou, éditions « L'Encyclopédie Soviétique », 1975.

2. Le système de standardisation d'Etat. Moscou, éditions « Standards d'Etat de l'U.R.S.S. », 1976.

3. Travaux du VGNKI du Ministère de l'Agriculture de l'U.R.S.S., Moscou, Tome XVIII, 1972.

4. *Idem*, Moscou, Tome XXIII, 1977.

5. *Idem*, Moscou, Tome XXIV, 1977.

6. Revue « *Sel'skokhoziaistvennaïa biologia* » *(« Biologie agricole »)*, Moscou, N° 5, 1977.

Bull. Off. int. Epiz., 1978, **89** (5-6), 313-321.

Trials for improving potency testing of Foot-and-Mouth Disease vaccines by combination of two laboratory tests

by

K. BAUER and R.J. LORENZ

Control of potency of Foot-and-Mouth Disease (FMD) vaccines in cattle is not only an economic problem but also a dangerous source of infective virus for the environment. Both would be diminished by the use of a laboratory test. Many attempts have been made to establish tests using laboratory animals, but most of them are poorly correlated with the results of potency testing in cattle. Our aim is to decrease the number of cattle tests by preselecting really good vaccines by the use of laboratory tests.

We therefore tried to evaluate the amount of the immunizing 140 S antigen, which may be eluted from FMD vaccines. Quantitation of eluted antigen seems to be correlated with the protective power of vaccine (LEUNEN *et al.*, 1971; STROBBE *et al.*, 1973; BAUER, 1977) but it has two disadvantages : There is a relatively large group of results which do not allow a clear classification of the vaccine under test. On the other hand, this test cannot evaluate the activity of the adjuvant present in the vaccine. We therefore tried to combine the determination of the amount of immunizing antigen with a test in cheap and uniform laboratory animals i.e. in mice.

MATERIALS AND METHODS

Vaccines.

We tested five types of commercially produced vaccines, using calf kidney cells, different BHK cell lines as monolayers or suspen-

sion cultures and surviving bovine tongue epithelium as sources for virus production. Inactivation was done by formalin, acetylethyleneimine or ethyleneimine. All vaccines were adsorbed to aluminium hydroxide with or without saponine as an additional adjuvant.

Elution technique.

The antigen was eluted three times from the aluminium hydroxide by M/3 phosphate buffer according to the method described by MATHEKA (1959) using a volume of 1/20 of the original volume of the vaccine. The eluted antigen was dialyzed against the buffer used for complement fixation test (OSLER *et al.*, 1948). One part of the antigen was treated four times with arcton 113 to remove the 12 S antigen (MUSSGAY, 1959).

Complement fixation test.

The treated and the untreated antigen was diluted in two-fold steps and tested in a complement fixation test using three complement concentrations (1, 1 1/2 and 2 units of complement inducing 100% haemolysis). The antisera were prepared as described by TRAUB and RODRIGUES-MANSO (1944). In the test a mixture of at least two strain-specific sera was used for each type of FMD virus. The amount of complement fixing antigen was calculated according to PETR and LAZNICKA (1972) and expressed in H_{50}.

Potency testing in mice.

The method of vaccination and challenge of mice by myotropic strains of FMD virus was described by BERNHARDT *et al.* (1977). We modified this three-point method because many vaccines showed no protection in a dilution of 1:5. We therefore enlarged the number of animals vaccinated with the undiluted vaccine to at least 30 and calculated the results as percentage of protected animals.

Cattle test.

Three (in a few cases up to nine) heads of cattle were vaccinated with each vaccine. Three weeks p.vacc. the animals were infected by rubbing the tongue with a cloth sucked with a FMD virus suspension containing at least 10^4ID_{50}/ml. One control animal infected in the same manner had to develop generalized FMD and remained in contact with the vaccinated animals for all the observation period of 10 days.

Statistical evaluation of the results.

The results of the complement fixation tests (CF) were divided into three classes : no CF antigen detectable (negative), low amounts of antigen detectable (H_{50} 0.8-1.0) and antigen well detectable ($H_{50}>1.0$). These classes were enlisted with the results of the cattle test classified as « no signs of FMD », « tongue lesions only » and « generalized FMD » in a 3 × 3-contingency table as described by CAVALLI-SFORZA (1974). The results of potency testing in mice were classified in 0-30% protection and 31-100% protection. These classes were compared with the results of the cattle test classified as to « protected » and « showing signs of FMD », giving a 2 × 2-table.

Probabilistic inference from the results of the combined laboratory tests on the expected result in the cattle test.

For each vaccine tested there are three categorial attributes according to its response to the three test procedures. The various events occurring in the tests will be designated by symbols.

Cattle test.

B_1 : All tested cattle were protected.
B_2 : Not all tested cattle were protected (i.e. there were either tongue or foot lesions).

Complement fixation test.

$A_{1.}$: positive ($H_{50}>1.0$).
$A_{2.}$: intermediate ($0.8<H_{50}<1.0$).
$A_{3.}$: negative ($H_{50}<0.8$).

Potency test in mice.

$A._1$: 31-100% protection of tested mice.
$A._2$: 0- 30% protection of tested mice.

Each vaccine can also be classified according to the joint outcome of the CF test and the potency test in mice. There are then 6 categories A_{jk} (j = 1,2,3; k = 1,2). A_{jk} is the designation of the combined result : the vaccine under test was classified into category A_j. according to the CF test *and* into category $A._k$ according to the potency test in mice. Considering additionally the two categories for the cattle test, B_1 and B_2, we obtain a table of 12 possible joint results, A_{ijk} of all three tests together. The first index i (i = 1,2) is for the enumeration of the two categories, B_1 and B_2, in the cattle test (see Table I).

When a large number of vaccines has been tested the cells of the table can be filled with the numbers of vaccines belonging to the corresponding combination of test results. In this way an empirical distribution of vaccines over the categorial response pattern is obtained.

It is then possible, by means of the theorem of BAYES (1972), to estimate the probability that a vaccine which passed the two laboratory tests with a combined result in category A_{jk}, will pass the cattle test in category B_1 or B_2, respectively. The great practical implication of this theorem is obvious, since it provides a (probabilistic) prediction of the result to be expected in the cattle test (if this would be performed) on the basis of the results of the two laboratory tests alone. Hence, if this prediction proves to have a sufficiently high chance of being correct, the cattle test can be substituted by the combined laboratory tests.

Essentially, the estimated probabilities are simple ratios determined from Table I. If n_{ijk} denotes the number of vaccines tested in the past and falling into the category A_{ijk}, and $P(B_i A_{jk})$ is the probability of a vaccine to fall into category B_i in the cattle test under the condition that it had a result in category A_{jk} in the combined laboratory tests, then the following equation is approximately true :

$$P(B_i|A_{jk}) = \frac{n_{ijk}}{n_{1jk} + n_{2jk}}$$

RESULTS

The comparison of the amount of antigen eluted from the vaccine and not affected by arcton and the protection by this vaccine for cattle (Table II) showed that there is a high percentage of protection (96%) in the class of vaccines from which larger amounts of antigen ($H_{50} > 1.0$) could be eluted. On the other hand the group of vaccines where no complement fixing antigen could be detected corresponded to a protection percentage of 77% in cattle. The class of vaccines from which only small amounts of antigen could be eluted (H_{50} 0.8-1.0) showed 4% cattle affected with foot lesions but 15% cattle affected with tongue lesions.

In the second test, there was only a poor correlation between the protection in mice and in cattle (Table III). A percentage protection of less than 30% in mice corresponded to 85% protection in cattle

and this value increased to 92 % for vaccines protecting 31-100 % of mice. The χ^2 value of 1,65 is lower than the value of 3.84 for $p = 0.95$.

In order to get further differentiation especially of the group of vaccines showing intermediate results in the CF-test, we combined the results of the CF-test and the results of the potency test in mice. In this case we used the number of vaccines under test instead of the number of tested cattle. There were, in all, 41 vaccines which have been tested simultaneously by the cattle test, the CF-test, and the potency test in mice. Table IV shows the frequencies with which the 12 possible combinations of results were obtained.

By means of the theorem of BAYES a table of probabilities can be derived from these data, designating the chances that a vaccine having passed the two laboratory tests in one of the 6 possible categories would pass the cattle test with no signs of FMD (Table V). The complementary table showing the probabilities for a vaccine passing the cattle test with the occurrence of FMD is omitted because the values are complementary to 1.0. For example, if the chance is 80 % in Table V, the complementary chance would be 100 - 80 = 20 %.

DISCUSSION

Discussing the results of laboratory tests and their correlation to the protection percentage in cattle, one has to keep in mind that the aim of these tests is not to substitute the cattle test but to detect those vaccines showing a good protection in the cattle test. Only these vaccines have not to be tested in cattle.

Our results show a correlation between content of complement fixing antigen in the eluate of vaccines and the protection of cattle by these vaccines against an infection by FMD virus. The χ^2 value for the nine classes in Table II is 50.43 and is much beyond the percentage value of 9.49 at the 5 % level of significance. This indicates that the three classes established for vaccines correspond to different percentages of immunity in cattle. Vaccines showing high amounts of complement fixing antigen ($H_{50} > 1$) protected 96 % of the cattle tested. For this group of vaccines it is proposed that the cattle test is not essential. Vaccines with no detectable antigen correspond to 77 % protection in cattle. Here the cattle test cannot be replaced by another test. The class of vaccines containing low amounts of anti-

gen (H_{50} 0.8-1.0) has a protection percentage of 81 %. Most of the diseased animals have mouth lesions only (15 %) and a few are also affected with foot lesions. That means that in this group a part of the vaccines confer a lower degree of protection. To select these vaccines we combined the results of the CF-test with these of the potency test in mice using the BAYES' rule.

The BAYES' rule is now widely used in the automatic diagnosis of human diseases : A pattern of observed symptoms is allocated to one out of a number of eligible diseases (which are considered as non-observable). A similar situation is given when an inference is made from the observed pattern of laboratory test results to the (not observed) result of the cattle test.

It is obvious that the probabilities shown in Table V are estimates only based on a relatively small number of events. For example the two 100 % values are calculated from 9 and 11 vaccines, respectively. However, these estimates can be improved and stabilized when more and more vaccines have been examined simultaneously so that, after having a sufficient retrospective experience, a rule like this (for example) can be established : the cattle test can be dispensed if :

— *either* there is a value of $H_{50} > 1.0$ in the CF-test irrespective of the result of the potency test in mice,

— *or* there is a value of H_{50} between 0.8 and 1.0 in the CF-test but in the potency test in mice protection of more than 31 % was obtained. Using our results the cattle test could be dispensed with for 59 % of vaccines.

*
* *

SUMMARY

A method evaluating the amount of antigen in Foot-and-Mouth Disease vaccines by complement fixation after elution from aluminium hydroxide and a potency test in mice using myotropic Foot-and-Mouth Disease virus as challenge virus were combined. These results were compared with the protection confered by these vaccines to cattle. A scheme is proposed by which 59 % of the vaccines could be classified as good protecting in cattle. For these vaccines the cattle test should not be essential.

*
* *

ACKNOWLEDGEMENTS

The excellent technical assistance of Mrs. B. NAGEL and Miss C. PREUSS is gratefully acknowledged.

*
* *

REFERENCES

BAUER (K.). — Attempts at potency testing of Foot-and-Mouth Disease vaccines by evaluation of the complement fixing capacity of eluates. *Develop. biol. Standard.*, 1977, **35**, 297-300.

BAYES' rule in : WEBER (E.). — Grundriss der biologischen Statistik. 7 ed. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1972.

BERNHARDT (D.), RUNGE (W.) and KINDT (H.). — Wirksamkeitsbestimmung von MKS-Vakzinen im 3-Punktetest in Maüsen. *Zbl. Vet. Med.*, 1977, B **24**, 293-296.

CAVALLI-SFORZA (L.). — Grundzüge biologisch medizinischer Statistik. 4 ed. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1974.

LEUNEN (J.), STROBBE (R.) and DEBECQ (J.). — Contrôles d'activité comparatifs répétés de trois lots de vaccins antiaphteux. *Ann. Méd. vét.*, 1971, **115**, 209-244.

MAYER (M.M.), OSLER (A.G.), BIER (O.G.) and HEIDELBERGER (M.). — Quantitative studies of complement fixation. I. A method. *J. Immunol.*, 1948, **59**, 195-206.

MUSSGAY (M.). — Trennung zweier spezifischer Einheiten des Virus der Maul - und Klauenseuche mit einem Fluor-Kohlenwasserstoff. *Z. Hyg. Infekt. Krh.*, 1959, **146**, 48-57.

PETR (G.) and LAZNICKA (F.). — A simple quantitative microtest for determination of the complement binding activity of Foot-and-Mouth Disease virus. *Acta virol.*, 1972, **16**, 133-140.

STROBBE (R.), DEBECQ (J.), CHARLIER (G.) and LEUNEN (J.). — Relation entre la dose d'antigène déterminée par élution et l'efficacité de vaccins antiaphteux. *Ann. Méd. vét.*, 1973, **117**, 45-52.

TRAUB (E.) and RODRIGUEZ-MANSO (F.). — Über die Herstellung komplementbindender Meerschweinchensera für die Typendiagnose bei Maul- und Klauenseuche. *Zbl. Bakt. I. Orig.*, 1944, **151**, 380-389.

TABLE I.

Scheme for classifying the results of three potency tests.

		Cattle test			
		B_1		B_2	
		Potency test in mice		Potency test in mice	
		$A._1$	$A._2$	$A._1$	$A._2$
Complement Fixation test	A_1.	A_{111}	A_{112}	A_{211}	A_{212}
	A_2.	A_{121}	A_{122}	A_{221}	A_{222}
	A_3.	A_{131}	A_{132}	A_{231}	A_{232}

TABLE II.

Comparison between protection in cattle and complement fixing antigen in the eluate from Foot-and-Mouth Disease vaccines.

CF-test (H_{50})	Cattle test : No lesions	Number of cattle with : Mouth lesions	Foot lesions
>1.0	202 = 96 %	5 = 3 %	3 = 1 %
0.8 - 1.0	94 = 81 %	17 = 15 %	5 = 4 %
negative	70 = 77 %	5 = 5 %	16 = 18 %

$x^2 = 50{,}44$

TABLE III.

Comparison between protection in cattle and protection in mice.

Protection percentage in mice	Occurrence of FMD in cattle	No signs of FMD in cattle
31 – 100 %	6 = 8 %	69 = 92 %
0 – 30 %	9 = 15 %	51 = 85 %

$x^2 = 1.65$

TABLE IV.

Combination of CF-test, potency test in mice and cattle test.

		Potency test in cattle :					
		No signs of FMD			Occurrence of FMD		
		Potency test in mice Protection :			Potency test in mice Protection :		
		31-100%	0-30%	Sum	31-100%	0-30%	Sum
CF test	> 1.0	11	9	20	0	0	0
	0.8 – 1,0	4	2	6	1	2	3
	< 0.8	4	1	5	3	4	7
	Sum	19	12	31	4	6	10

TABLE V.

Probabilities that a vaccine having passed the two laboratory tests in one of the 6 categories will pass the cattle tests without causing signs of FMD (based on 41 tested vaccines).

		Potency test in mice Protection :	
		31-100%	0-30%
Complement Fixation test	H_{50} : >1.0	100 %	100 %
	0.8 – 1.0	80 %	50 %
	<0.8	57 %	20 %